



PARAOXONASA-1 EN PACIENTES CON INFECCIONES ASOCIADAS A CATÉTER

Simona Mihaela Iftimie

Dipòsit Legal: T 896-2015

ADVERTIMENT. L'accés als continguts d'aquesta tesi doctoral i la seva utilització ha de respectar els drets de la persona autora. Pot ser utilitzada per a consulta o estudi personal, així com en activitats o materials d'investigació i docència en els termes establerts a l'art. 32 del Text Refós de la Llei de Propietat Intel·lectual (RDL 1/1996). Per altres utilitzacions es requereix l'autorització prèvia i expressa de la persona autora. En qualsevol cas, en la utilització dels seus continguts caldrà indicar de forma clara el nom i cognoms de la persona autora i el títol de la tesi doctoral. No s'autoritza la seva reproducció o altres formes d'explotació efectuades amb finalitats de lucre ni la seva comunicació pública des d'un lloc aliè al servei TDX. Tampoc s'autoritza la presentació del seu contingut en una finestra o marc aliè a TDX (framing). Aquesta reserva de drets afecta tant als continguts de la tesi com als seus resums i índexs.

ADVERTENCIA. El acceso a los contenidos de esta tesis doctoral y su utilización debe respetar los derechos de la persona autora. Puede ser utilizada para consulta o estudio personal, así como en actividades o materiales de investigación y docencia en los términos establecidos en el art. 32 del Texto Refundido de la Ley de Propiedad Intelectual (RDL 1/1996). Para otros usos se requiere la autorización previa y expresa de la persona autora. En cualquier caso, en la utilización de sus contenidos se deberá indicar de forma clara el nombre y apellidos de la persona autora y el título de la tesis doctoral. No se autoriza su reproducción u otras formas de explotación efectuadas con fines lucrativos ni su comunicación pública desde un sitio ajeno al servicio TDR. Tampoco se autoriza la presentación de su contenido en una ventana o marco ajeno a TDR (framing). Esta reserva de derechos afecta tanto al contenido de la tesis como a sus resúmenes e índices.

WARNING. Access to the contents of this doctoral thesis and its use must respect the rights of the author. It can be used for reference or private study, as well as research and learning activities or materials in the terms established by the 32nd article of the Spanish Consolidated Copyright Act (RDL 1/1996). Express and previous authorization of the author is required for any other uses. In any case, when using its content, full name of the author and title of the thesis must be clearly indicated. Reproduction or other forms of for profit use or public communication from outside TDX service is not allowed. Presentation of its content in a window or frame external to TDX (framing) is not authorized either. These rights affect both the content of the thesis and its abstracts and indexes.

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI
Departament de Medicina i Cirurgia
Facultat de Medicina i Ciències de la Salut
Programa de Doctorat: BIOMEDICINA



**Paraoxonasa-1 en pacientes con infecciones
asociadas a catéter**

Simona Mihaela Iftimie
TESIS DOCTORAL

**Dirigida por Dr. Antoni Castro Salomó y codirigida por
Dr. Jordi Camps Andreu**

Reus, 2014



Dr. Antoni Castro Salomó i Dr. Jordi Camps Andreu, ambos profesores del Departamento de Medicina i Cirurgia de la Universitat Rovira i Virgili,

HACEMOS CONSTAR:

Que, en el presente trabajo, titulado: "Paraoxonasa-1 en pacientes con infecciones asociadas a catéter", que presenta Simona Mihaela Iftimie para la obtención del título de Doctor, ha sido realizado bajo dirección en el Departamento de Medicina i Cirurgia de esta universidad.

Reus 17/11/2014

Los directores de la tesi doctoral


Antoni Castro Salomó
Jordi Camps Andreu

A mis abuelos
A mis padres
A mi marido y a mi hija

AGRADECIMIENTOS

Agradecer la labor de mis directores de tesis, que han demostrado ser aparte de excelentes profesionales, grandes personas.

Al Dr. Antoni Castro por su confianza, apoyo y por guiarme en el fascinante camino de las infecciones.

Al Dr. Jordi Camps por despertar mi motivación abriendo la puerta del mundo de la investigación con su incondicional soporte e infinita paciencia.

Al Equipo médico de Urología, a las enfermeras de Curta Estada, de Cirugía y Medicina Interna y a Montse Estivill que desde el inicio del estudio han colaborado y me han animado.

A todos los compañeros y compañeras del Hospital que me ayudaron amablemente a incorporar pacientes para el estudio, especialmente al Dr. Alexander Córdoba.

A Nuria Aguilera y a Maite Parejo por hacer posible la recogida de muestras a pesar de todas las dificultades.

A Anabel García por su colaboración activa en este proyecto.

Al Profesor Lluís Masana por mostrarme el valor de la responsabilidad y del compromiso, por sus enseñanzas desde mi llegada al Hospital Universitari de Reus.

A la Dra. Pilar Sardà “la mama” por su confianza, soporte y su gran corazón.

A mis compañeros de Medicina Interna, adjuntos y residentes, que han compartido conmigo el camino para realizar este trabajo.

A todo el Equipo de Microbiología por su compañerismo y gran profesionalidad.

Al equipo VINCAT por la energía y el entusiasmo con el que nos guían siempre, es un gran privilegio poder trabajar con vosotros.

A todos los pacientes que han participado voluntariamente en este proyecto.

Este estudio se ha realizado gracias a la subvención del Instituto de Salud Carlos III (PI11/02817 y PI11/00130).

Al Dr. Dan Twfik, del Weizmann Institute de Rehovot, Israel, por la desinteresada donación del reactivo TBBL.

A mis amigas Ana Felisa, Raquel, Ana Belen por estar siempre a mi lado. Soy afortunada, puedo presumir de disfrutar de su amistad.

A mis amigos que han sabido disculpar mis ausencias y siempre me han animado.

A mis padres y a mis abuelos por su respaldo, protección y amor incondicional. A mi marido y a mi hija Alexia por quererme y creer en mí, por su paciencia y apoyo en todos los aspectos de mi vida. Esta tesis también es vuestra.

A todas las personas que han estado presentes durante el desarrollo de este trabajo y han hecho posible su realización.

A todos, MUCHAS GRACIAS!

Índices



ÍNDICE

JUSTIFICACIÓN	17
INTRODUCCIÓN.....	21
1. Paraoxonasas	23
2. Influencia de los antecedentes genéticos en la actividad PON1	25
3. El origen principalmente hepático de la PON1	27
4. Función fisiológica de PON1	28
A. La degradación de los lípidos oxidados	28
B. La actividad nativa PON1 es lactonasa	30
5. PON1, HDL y la inflamación	34
6. PON2 Y PON3	39
7. PON1 en las enfermedades humanas	40
8. Paraoxonasas como agentes antibiofilm	40
9. Panorama general de los métodos utilizados para medir la actividad y la concentración de PON1	42
A. Muestras	43
B. Los ensayos de actividad de esterasa	43
C. Los ensayos de actividad lactonasa	44
D. Medición de la concentración sérica de PON1	46
10. Marcadores de infección	47
11. Infección relacionada con el catéter venoso central	50
A. Definiciones	50
B. Clasificación catéteres	52
C. Epidemiología	53
D. Factores de riesgo para infecciones relacionadas con catéteres vasculares	54
E. Patogenia	55
F. Diagnostico	57
12. Bacteriuria asintomática asociada a catéteres urinarios	60
A. Definiciones	60
B. Epidemiología	62
C. Patogenia	63
D. Diagnostico	66
HIPÓTESIS	69

OBJETIVOS	73
MATERIAL Y MÉTODOS	77
1. Participantes y diseño	79
2. Requerimientos éticos	83
3. Determinaciones analíticas	84
4. Análisis estadísticos	88
RESULTADOS	91
1. Resultados del grupo de pacientes portadores de catéter central	94
2. Resultados del grupo de pacientes portadores de sondas urinarias	118
DISCUSIÓN	135
I. Relación entre las variables bioquímicas estudiadas y las características generales de los grupos estudiados	137
1. Polimorfismos <i>PON1</i> en pacientes portadores de catéteres respecto a una población control.	137
2. Variables bioquímicas estudiadas (PON1 y MCP-1) en pacientes portadores de catéter (CVC o SU) respecto a grupo control de participantes sanos.	138
3. Relación entre las variables bioquímicas estudiadas y los antecedentes patológicos de los pacientes.	140
II. Relación entre las variables bioquímicas estudiadas e infección	142
A. Grupo de pacientes portadores de catéter central	142
1. La gravedad de la infección se correlaciona con los niveles circulantes de PCR, MCP-1, actividad PON1 Esterasa y Lactonasa.	142
2. Rendimiento diagnóstico de las variables bioquímicas estudiadas	143
B. Grupo de pacientes portadores de SU	144
CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS	147
BIBLIOGRAFÍA	151
ANEXOS	187
Anexo I. Índice Charlson, Puntuación McCabe y Jackson	189
Anexo II. Artículo científico	190

ABC	Área bajo la curva
ABCA1	<i>ATP-binding cassette A1</i>
ADN	Ácido desoxirribonucleico
AE PON1	Actividad específica PON1 (actividad /concentración PON1)
AE Lactonasa	Actividad específica Lactonasa (actividad Lactonasa/concentración PON1)
AHL	Acilhomoserina lactona
AiiA	<i>Autoinducer inactivation</i>
Apo E	Apolipoproteína E
ARNm	ARN mensajero
BA	Bacteriuria asintomática
BARSU	Bacteriuria asintomática relacionada con sonda urinaria
CVC	Catéter venoso central
EDTA	Ácido etilendiaminotetraacético
EPINE	Estudio de Prevalencia de las Infecciones Nosocomiales en España
EPOC	Enfermedad pulmonar obstructiva crónica
HDL	Lipoproteínas de alta densidad
HIV	Virus de la inmunodeficiencia humana
ICA	Infección concomitante aguda no relacionada con catéter
ICAM-1	Intercellular adhesion molecule-1
IRC	Infección relacionada con catéter central
ITU	Infección tracto urinario
KO	<i>Knockout</i>
LDL	Lipoproteínas de baja densidad
MCP-1	<i>Monocyte chemoattractant protein-1</i>
PCR	Proteína C-reactiva
PICC	Catéter central de inserción periférica
PON1	Enzima paraoxonasa 1
PON1	Gen que codifica PON1
PON2	Enzima paraoxonasa 2
PON2	Gen que codifica PON2
PON3	Enzima paraoxonasa 3
PON3	Gen que codifica PON3
QQ	<i>Quorum quenching</i>
QS	<i>Quorum sensing</i>
ROC	Curvas de rendimiento diagnóstico
SAA	Proteína sérica amiloide A
SU	Sonda urinaria
TBBL	Tiobutilbutirolactona
UFC	Unidades formadoras de colonias
VCAM-1	Circulating vascular cell adhesion molecule-1
VINCAT	Vigilancia de las infecciones nosocomiales en los hospitales de Cataluña
VPP	Valor predictivo positivo
VPN	Valor predictivo negativo



Justificación

JUSTIFICACIÓN

Las enfermedades infecciosas traspasan los límites habituales establecidos por las especialidades médicas, pueden afectar a todos los sistemas orgánicos y cualquier médico asistencial puede tener que enfrentarse a pacientes con estas patologías. El número de personas cuyas defensas están comprometidas por enfermedades subyacentes o por tratamientos médicos¹ sigue en aumento, con lo que encontramos infecciones cada vez más complejas y de difícil manejo. En la actualidad, también nos enfrentamos a la creciente emergencia de gérmenes resistentes a los antibióticos convencionales,¹⁻⁴ y con frecuentes infecciones relacionadas con el uso de catéteres o asociadas con la asistencia sanitaria.^{1,5}

Las consecuencias más importantes de estas enfermedades son las derivadas de su morbilidad, el alargamiento de las estancias y el coste económico directo e indirecto, sin olvidar las consecuencias legales.^{6,7} Por ello, su detección temprana permite un tratamiento precoz con un impacto importante en los índices de salud.^{8,9} Una estancia prolongada aumenta no sólo los costos directos, sino también los indirectos (laborales, sociales, familiares, etc). El mayor uso de medicamentos, la necesidad de aislamiento y el uso de más estudios de laboratorio y otros con fines diagnósticos también elevan los gastos.¹⁰

En varias enfermedades infecciosas e inflamatorias que implican estrés oxidativo fueron descritas alteraciones en los niveles sanguíneos de la enzima paraoxonasa-1 (PON1)¹¹⁻¹³ y también se describió que esta enzima inhibe las señales de *quorum sensing* (QS), reduciendo de esta manera la formación de biofilms bacterianos.^{14,15}

El QS es un mecanismo regulador que utilizan las bacterias como señalización para sincronizar su expresión génica y coordinar diferentes actividades biológicas en una misma población local.¹⁶⁻¹⁸

Los biofilms son agregados microbianos incluidos en una matriz polimérica, que se adhieren a superficies biológicas o no biológicas. Pueden ser encontrados sobre cualquier implante pero también sobre mucosas. Las bacterias organizadas en biofilms crecen más lentamente, tienen una actividad metabólica reducida y responden peor a los antibióticos.¹⁹⁻²¹

En la presente Tesis Doctoral, hemos querido estudiar la relación entre infección e inflamación relacionadas con catéteres y los niveles de PON1, aspectos que no están suficientemente aclarados en la literatura, como paso previo a la investigación de la posibilidad de que estas determinaciones se puedan utilizar como marcadores predictivos de la infección.

Introducción

INTRODUCCIÓN

Paraoxonasas

En los últimos años se ha avanzado considerablemente en el conocimiento de la estructura y de la función de las paraoxonasas (PON). Hasta la fecha, la mayoría de los investigadores están de acuerdo en que las enzimas PON son un grupo filogenéticamente relacionado que poseen actividad lactonasa, y que tienen la capacidad de degradar peróxidos de lípidos en lipoproteínas y en células. Como tales, desempeñan un papel protector contra el estrés oxidativo y la inflamación, procesos clave implicados en la fisiopatología de muchas patologías humanas, como la enfermedad cardiovascular. El número de patologías en las que se ha descrito alteraciones en la actividad o expresión *PON* está aumentando exponencialmente.²²

La familia de enzimas PON consta de 3 miembros: PON1, PON2 y PON3, cuyos genes están situados uno al lado del otro en el cromosoma 7q21-22.^{23,24} En los seres humanos, los genes de PON1 y PON3 se expresan principalmente en el hígado y en los riñones y sus productos proteicos se encuentran en la circulación unidos a lipoproteínas de alta densidad (HDL).²⁵⁻²⁸ Al contrario, el gen *PON2* se expresa una variedad de tejidos, pero su producto proteico es una enzima intracelular que no se ha encontrado en plasma.²⁹ Las funciones fisiológicas de estas enzimas son todavía inciertas. PON1 tiene actividades paraoxonasa (degrada paraoxón, un insecticida organofosforado), arilesterasa y lactonasa³⁰ y está implicada en la protección contra la toxicidad de xenobioticos.³¹ PON2 y PON3 no son activas contra sustratos organofosforados, pero tienen actividad lactonasa.³² Todas las PON son capaces de inhibir la oxidación de las

lipoproteínas de baja densidad (LDL),³³ mientras que PON2 retrasa el estrés oxidativo celular y previene la apoptosis en las células endoteliales vasculares.³⁴ Por estas razones, se les atribuye a todas las PON propiedades antiaterogénicas. Además, estudios en modelos experimentales de arteriosclerosis en ratones han demostrado consistentemente que PON1, 2 o 3 inhiben o invierten el desarrollo de aterosclerosis a través de mecanismos que implican la reducción del estrés oxidativo, la promoción del eflujo de colesterol de los macrófagos, y la normalización de la función del endotelio vascular.^{11,35-37}

PON1 fue descrita por primera vez en el año 1946 por A. Mazur por su capacidad de hidrolizar *in vitro* diversos organofosforados,³⁸ y más tarde por Aldridge en 1953 que, al examinar las velocidades de hidrólisis de paraoxón en diferentes tejidos de ratas y conejos,^{39,40} observó que los conejos tenían una tasa de degradación de paraoxón en el suero muy alta.

Aldridge dividió las esterasas en dos categorías en función de si se inhibían por la interacción con sustratos (B-esterasas) o si podían hidrolizar sustratos (A-esterasas). Sobre la base de estas publicaciones originales, la A-esterasa fue referido como paraoxonasa debido a su capacidad para hidrolizar el oxon metabolito tóxico del paratión, por lo tanto “paraoxón”. Cuando dos enzimas muy similares fueron identificados a mediados de 1990, la paraoxonasa original se denominó PON1, mientras que las dos nuevas enzimas se denominaron PON2 y PON3.²³

Se han descrito alteraciones en los niveles circulantes de PON1 en varias enfermedades que implican estrés oxidativo: enfermedad cardiovascular, enfermedades neurológicas, insuficiencia renal crónica, enfermedad inflamatoria intestinal, lupus,

enfermedad hepática crónica, diabetes, sepsis, infección por: HIV, bacterias, micobacterias, virus, nemátodos, etc.⁴¹⁻⁶⁴

Influencia de los antecedentes genéticos en la actividad PON1

En el suero humano existe una importante variabilidad en la actividad PON1 entre individuos, ya que se han descrito tres fenotipos diferentes que corresponden a actividades altas, intermedias y bajas. La frecuencia de los diferentes alelos varía entre poblaciones de diferentes orígenes geográficos y étnicos.⁶⁵⁻⁶⁸

Se han desarrollado varios ensayos para examinar los polimorfismos del fenotipo de *PON1*⁶⁹ observándose que la representación de los valores de la hidrólisis de un sustrato (acetato de fenilo, diazoxon, sarín) frente a la de un segundo sustrato (paraoxón) proporcionaba un método para la discriminación clara de los individuos con bajas (denominado AA), intermedias (llamado AB) y altas (denominado BB) actividades PON1.⁷⁰ Eckerson *et al.*,^{71,72} observó que la isoenzima B era más activa en presencia de NaCl. Utilizando esta propiedad, los autores relacionaron los valores de actividad arilesterasa con los valores medidos de actividad paraoxonasa en presencia de NaCl 1M. Este sistema ha demostrado ser el más eficaz en la diferenciación entre los diferentes polimorfismos *PON1* (Figura 1).

Las bases genéticas de los polimorfismos fenotípicos PON1 se definieron por primera vez por Adkins *et al.*⁷³ que secuenciaron la región codificante para la PON1 a partir de bibliotecas de ADN humano y se identificaron dos sitios polimórficos: polimorfismo *PON1*₁₉₂, con dos alelos denominados Q y R, y polimorfismo *PON1*₅₅,

con dos alelos denominados L y M. El polimorfismo *PON1*₁₉₂ correlacionó con el fenotipo del sistema AB (Figura 1); los individuos QQ poseen un fenotipo de AA, y los individuos RR, poseen un fenotipo BB.

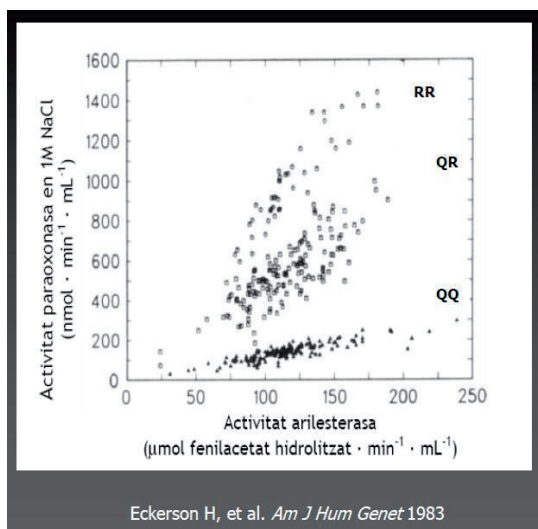


Figura 1. Relación entre las actividades paraoxonasa y arilesterasa de PON1 en individuos diferentes. La representación gráfica de la actividad paraoxonasa con 1mol/L NaCl *versus* la actividad arilesterasa muestran tres grupos de individuos correspondiente a los tres fenotipos AA, AB, y BB.

En 1997, Garin *et al.*⁶⁸ observaron diferencias considerables en relación con el genotipo *PON1*₅₅; los individuos portadores de una leucina en la posición 55 (isoforma L) tienen mayores concentraciones de PON1 en suero que aquellos con una metionina (isoforma M) en esta posición. Por el contrario, el polimorfismo *PON1*₁₉₂ afecta la actividad enzimática, pero tiene sólo un efecto leve en la concentración sérica de PON1; resaltando así una posible divergencia entre la concentración de la enzima y su actividad. La importancia de los genotipos de *PON1* se evidenció cuando algunos estudios informaron una asociación entre los alelos R y L y un mayor riesgo de enfermedad cardiovascular.^{68,74-76}

Más recientemente, se han descrito varios polimorfismos en la región promotora del gen *PON1*. Sin embargo, sólo *PON1*₋₁₀₈, *PON1*₋₉₀₉ y *PON1*₋₁₇₄₁ parecen estar significativamente asociados con los cambios en la concentración o actividad de la enzima en suero.

El origen principalmente hepático de la PON1

PON1 se encuentra principalmente en el suero y en el hígado. Análisis de *Northern Blot* realizados en tejidos humanos y de conejo detectaron ARNm *PON1* sólo en el hígado,⁷⁷ aunque estudios de RT-PCR más sensibles identificaron ARNm *PON1* en el hígado, riñón, corazón, cerebro, intestino y pulmón de ratones.²³ La expresión de la proteína PON1, medida por inmunohistoquímica, se ha observado en una variedad de tejidos de ratón, incluyendo el hígado, la mayoría de los epitelios, músculo, cerebro, tejido adiposo, y el cartílago hialino. Si PON1 se sintetiza localmente por estos tejidos, o si es llevada allí por HDL en la circulación, es un tema de debate. La falta de co-localización de PON1 y la apolipoproteína A-I (el componente principal de la apoproteína HDL) en los exámenes inmunohistoquímicos de varios tejidos de ratón, favorece la opción de la síntesis local de PON1.⁷⁸

Parece muy probable que el hígado sea la principal fuente de PON1 sérica⁷⁹ ya que es el órgano con la expresión más alta del gen *PON1*, y donde un porcentaje importante de HDL es sintetizado y secretado en la circulación. Durante los últimos quince años, ha habido varios intentos para purificar PON1 hepáticas hasta homogeneizar con el objetivo de comparar sus propiedades con las de la enzima sérica. Esta tarea se complica porque la PON1 hepática es una enzima asociada con vesículas de membrana derivadas del retículo endoplásmico.⁸⁰

En 1993 se publicó el primer método para la purificación parcial PON1 de hígado de rata.⁸¹ Más tarde, Huang *et al.*⁸² aislaron PON1 de microsomas hepáticos de ratón, y Rodrigo *et al.*⁸³ en 1997, purificaron PON1 del hígado de rata. Estudios posteriores con PON1 de hígado de rata y humano demostraron muchas características

bioquímicas en común con las PON1 de suero. Estos incluían pH óptimo, afinidad por el sustrato (KM), constantes cinéticas, inactivación por calor, y el necesidades de calcio,⁸⁴ lo que sugiere fuertemente un alto grado de identidad entre ambas enzimas.

Otras líneas de investigación también apoyan esta conclusión. Por ejemplo, Leviev *et al.*²⁶ observaron que los individuos portadores del alelo L del polimorfismo *PON1*₅₅ tienen una mayor producción de ARNm *PON1* hepático junto con una mayor actividad de PON1 en suero de los que llevan el alelo M. Feingold *et al.*⁸⁵ observaron una disminución en los niveles hepáticos de ARNm *PON1* y la actividad enzimática en suero relacionados con la respuesta de fase aguda.

En efecto, es en los microsomas hepáticos donde principalmente, tiene lugar el catabolismo de los compuestos xenobióticos, en el curso de la cual se observa un proceso de aumento de la producción de especies de radicales libres.⁸⁶ Rodrigo *et al.*⁸⁷ observaron expresión de la proteína PON1 principalmente en los hepatocitos de la región centrolobular, apoyando así la hipótesis de participación PON1 intrahepática protección contra la inactivación oxidativa de productos intermedios.

Función fisiológica de PON1

A. La degradación de los lípidos oxidados

Mackness *et al.*⁸⁸ observaron en 1991 que esta enzima puede estar implicada en la función protectora de HDL. Otros estudios de éste y otros grupos llegaron a la conclusión de que la PON1 protege LDL y HDL de la peroxidación lipídica al degradar determinados ésteres de colesterol y fosfolípidos contenidos en las lipoproteínas

oxidadas.⁸⁹⁻⁹⁵ Es de destacar que se demostró que el grupo sulfhidrilo libre de la cisteína 284 es fundamental para la actividad de la enzima contra peróxidos de lípidos,⁹² pero no para su actividad contra paraoxón o otros xenobióticos. Esto sugiere que los mecanismos de hidrólisis son algo diferentes. Este hallazgo puede ser relevante en el proceso de envejecimiento porque PON1 en los ancianos tiene una cantidad significativamente menor de los grupos sulfhidrilo libres y pierde, al menos en parte, su capacidad antioxidante.²⁸

Los estudios experimentales en animales proporcionaron un apoyo adicional a los experimentos *in vitro* que indicaban que la función fisiológica PON1 es hidrolizar lípidos oxidados y, funciona como una enzima antioxidante. En ratones apolipoproteína (apo) E^(-/-) y en los ratones obesos dislipidémicos^{91,96} se observó disminución de la actividad PON1 en suero y un aumento del estrés oxidativo. Los datos más concluyentes se generaron en modelos PON1^(-/-) y en ratones transgénicos con PON1 humana.⁹⁷⁻¹⁰⁰ Ratones PON1^(-/-) más apo E^(-/-) demostraron una mayor aterosclerosis y oxidación de lipoproteínas comparados con ratones exclusivamente apo E^(-/-).⁹⁸ La HDL aislada de ratones PON1^(-/-) fue incapaz de prevenir la oxidación LDL en cultivos de tejido arterial, en contraste con la HDL obtenida a partir de ratones de control.⁹⁸ Además, la HDL aviar (las HDL de aves no contienen PON1), no es capaz de proteger LDL de la oxidación.¹⁰¹ De acuerdo con estas observaciones, la sobreexpresión de PON1 humana en ratones transgénicos inhibe la formación de peróxidos de lípidos en HDL y protege la estructura y la función de las LDL.¹⁰⁰

En resumen, hoy en día, la mayoría de los estudios y la mayoría de los investigadores coinciden en que PON1 hidroliza los lípidos oxidados.¹⁰²⁻¹⁰⁷

Un esquema de la función desempeñada por PON1 en la protección contra el estrés oxidativo y la aterosclerosis se muestra en la Figura 2.

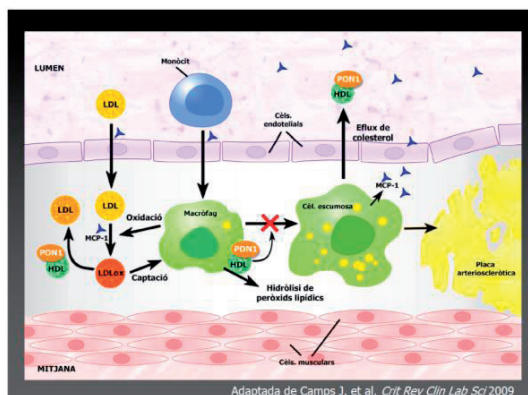


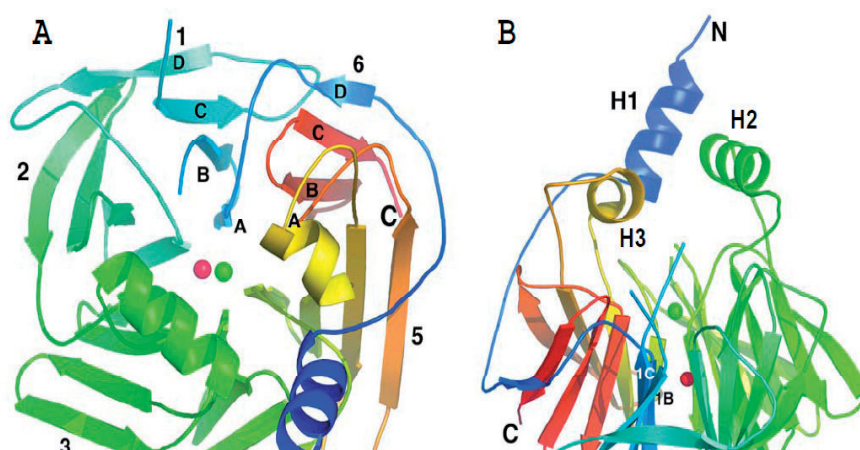
Figura 2. Esquema de la iniciación de aterosclerosis y el papel protector de PON1. Los monocitos circulantes son activados como consecuencia del entorno prooxidante y proinflamatorio, y se transforman en macrófagos. Las partículas de LDL entran también en los vasos. Los macrófagos promueven la oxidación LDL por la liberación de radicales libres. Las LDL oxidadas entran en los macrófagos y contribuyen a su conversión a células espumosas. La oxidación del macrófago de LDL y la formación de células espumosas son muestras de aterogénesis temprana. La hidrólisis de PON1 por los lípidos oxidados de las LDL revierte esta lipoproteína a LDL normal y, como tal, disminuye el desarrollo de aterosclerosis.

B. La actividad nativa PON1 es lactonasa

Esta enzima hidroliza una amplia gama de sustratos que incluyen ésteres, lactonas,^{69,108,109} organofosfatos tales como los agentes neurotóxicos somán y sarin,¹¹⁰

peróxidos de lípidos y ésteres de estrógenos.¹¹¹ Además, PON1 metaboliza ciertas drogas y se ha propuesto para uso terapéutico en la inactivación de fármacos.¹¹²⁻¹¹⁵ Debido a ello, la identificación de la función original o nativa de PON1 ha confundido largo tiempo a los investigadores. Por suerte, los métodos de evolución dirigida han sido altamente productivos para determinar la estructura y función de PON1.

Esencialmente, la evolución dirigida busca replicar el proceso evolutivo en el laboratorio induciendo artificialmente mutaciones en el gen de interés, seguido por selección y amplificación de las variantes que muestran una mejora de las características deseadas. Usando esta técnica, Harel *et al.*¹¹⁶ describieron PON1 como una hélice de seis palas *beta* con un único sitio activo que también está implicado en la unión a las HDL (Figura 3). El sitio activo y el mecanismo catalítico deducido sugirió que PON1 es una reminiscencia de la fosfolipasa A2.



Harel, M. et al., Nat. Struct. Mol. Biol. 11:412-419.

Figura 3. Estructura química de PON1.

(A) Vista de la hélice de seis palas desde arriba. La cima de la hélice es, según la convención, la cara que lleva los bucles que unen el hilo externo de cada lámina (hilo D) con el hilo interior de la siguiente lámina. Muestran la N y la C los dos átomos de calcio en el túnel central de la hélice. (B) Vista lateral de la proteína con las tres hélices en la cima (H1 a H3).

A pesar del enorme incremento en la complejidad de los organismos vivientes a través de la evolución, se ha producido relativamente poca novedad en el ámbito molecular a lo largo de los tiempos.¹¹⁷ Las PON son probablemente enzimas ancestrales, aparecieron muy temprano en la evolución y están presentes en muchos organismos, desde los Invertebrados hasta los Mamíferos.⁶⁹

Jensen¹¹⁸ propuso que, en contraste con las enzimas más modernas, las enzimas primitivas tenían muchas especificidades, y que esta versatilidad catalítica permitió que un número relativamente reducido de enzimas llevase a cabo multitud de funciones necesarias para el mantenimiento de los organismos ancestrales. La duplicación y la divergencia de genes llevaron a proteínas más especializadas y aumentó la eficiencia metabólica. Esta versatilidad de las enzimas primitivas ha sido denominada “promiscuidad enzimática”¹¹⁹⁻¹²² es decir una enzima que tiene varios “socios” o sustratos. Por lo tanto, PON1 fue descrita como una enzima promiscua, y la investigación se centró en tratar de distinguir las funciones nativas o “ancestrales” de esta enzima de todas las otras funciones secundarias o “adaptadas”. Una vez más, estudios de evolución dirigida, junto con estudios de estructura-función, establecieron que la función primordial de PON1 es ser una lipolactonasa¹²³⁻¹²⁶ que posteriormente desarrolló nuevas especificidades. Estos estudios también establecieron que los sustratos preferidos de PON1 son anillos de lactona, típicamente con cadenas laterales alifáticas.¹¹⁷

Recientemente, los estudios cinéticos y de mutagénesis han demostrado que la díada His¹¹⁵-His¹³⁴ es necesaria para la actividad lactonasa de PON1 y, así, para la degradación de lípidos oxidados.^{127,128} Se ha propuesto un modelo para vincular ambas capacidades¹²⁸ mediante el que los lípidos oxidados que contienen grupos hidroxilo en la posición 5' podrían ser lactonizados por PON1 para producir lisofosfatidilcolina y δ -

valerolactona (Figura 4). Como tal, de acuerdo con esta hipótesis, la capacidad PON1 para degradar peróxidos de lípidos es secundaria a su actividad lipolactonasa. Es de destacar que lisofosfatidilcolina aumenta el eflujo de colesterol de los macrófagos¹²⁹ y esto puede contribuir aún más a los efectos anti-aterogénicos de la PON1.

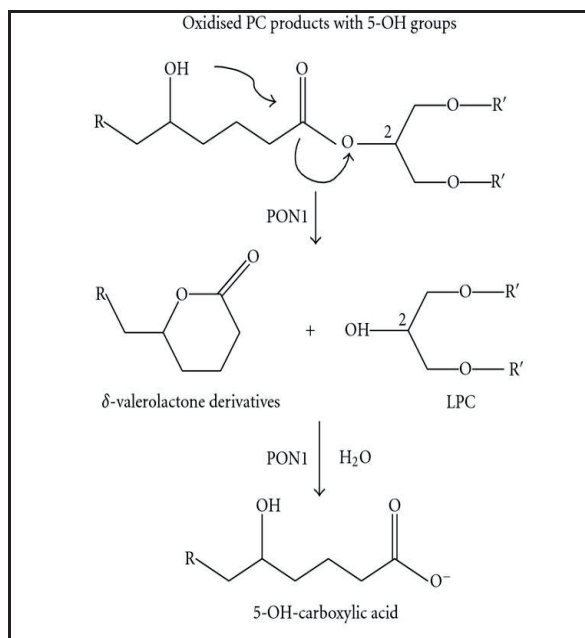


Figura 4. Mecanismo propuesto para la hidrólisis de lípidos oxidados en macrófagos por PON1. Los lípidos oxidados o derivados con grupos hidroxil en la posición 5 ' podrían ser lactonizados por PON1 para ceder lisofosfatidilcolina y derivados de δ-valerolactona. Esta última podría ser hidrolizada otra vez por PON1 para ceder el correspondiente ácido 5-hidroxicarboxílico.

American Society for Biochemistry and Molecular Biology, 2006

Usando modelos y técnicas de simulación Tavori *et al.*¹³⁰ comunicó nuevos datos sobre el mecanismo mediante el cuál PON1 hidroliza lactonas. Estos métodos utilizan modelos teóricos de los ligandos que van a ser evaluados (en este caso, lactonas). Mediante estos métodos, sugirieron que el centro activo de PON1 puede ser alcanzado por una serie de lactonas que tienen una orientación similar en el centro activo.

PON1, HDL y la inflamación

El papel central de la oxidación lipídica en la aterogénesis y la inflamación es evidente y, en gran parte, es generado por los potentes oxidantes producidos por la lipoxigenasa y la mieloperoxidasa. Datos preliminares sugieren que los mecanismos de la oxidación y del transporte inverso de colesterol en la aterogénesis pueden tener una base biológica común. Los niveles de lípidos específicos oxidados en plasma, de lipoproteínas, de anticuerpos contra estos lípidos, y las propiedades inflamatorias/anti-inflamatorias de HDL pueden ser marcadores útiles de sensibilidad a aterogénesis.¹³¹

Las partículas lipoproteicas de alta densidad tienen propiedades antioxidantes¹³² y antiinflamatorias, incluyendo la supresión de moléculas de adhesión endotelial.¹³³ Las LDL oxidadas constituyen un potente inductor de moléculas inflamatorias que incluyen moléculas de adhesión, como selectina P, VCAM o ICAM-1 y activadores de los monocitos como MCP-1 (*monocyte chemoattractant protein-1*), influyendo tanto en la adherencia, como en la migración y la conversión final en macrófagos. Estas LDL oxidadas activan la transcripción de genes que estabilizan la producción de ARN mensajero.¹³⁴ Las partículas de HDL protegen *in vitro* a las LDL de esta oxidación, mediante dos enzimas: la acetilhidrolasa del factor activador de las plaquetas y la paraoxonasa.^{88,135} Hay una relación inversa entre el riesgo para arteriosclerosis y concentración HDL, impidiendo la acumulación de lípidos oxidados y la reacción inflamatoria que se deriva de tal oxidación.

Sin embargo, las HDL pueden ser pro-inflamatorias. Como consecuencia de estímulos inflamatorios, algunos de los reactantes de fase aguda se combinan con las lipoproteínas, provocando que la acción de las HDL sea diferente, e incluso opuesta

cuando el organismo se encuentra sometido a estímulos pro-inflamatorios. Las HDL aisladas durante la fase aguda aumentan la migración de los monocitos al espacio subendotelial inducida por las LDL, probablemente provocando una liberación masiva de MCP-1. Estas HDL tienen una actividad paraoxonasa y acetilhidrolasa mucho menor debido al desplazamiento que provocan las proteínas de fase aguda.¹³⁶ Extensos datos experimentales muestran un vínculo entre la peroxidación lipídica y la inflamación.¹³⁷ Se ha demostrado que las partículas de HDL poseen propiedades antioxidantes^{132,138,139} y anti-inflamatorias, incluyendo la supresión de moléculas endoteliales de adhesión celular inducidas por citocinas (CAM).¹⁴⁰⁻¹⁴² La infusión de HDL en modelos experimentales inhibe la CAM inducida por interleucina-1 β y la expresión E-selectina y P-selectina.^{143,144} Estudios en voluntarios sanos mostraron una estrecha relación entre los niveles de HDL y la respuesta inflamatoria a endotoxina, siendo la incidencia y la gravedad de los síntomas clínicos y las concentraciones plasmáticas de factor de necrosis tumoral, las interleucinas 1, 6 y 8, y MCP-1 mayores en los sujetos con bajas concentraciones de HDL que en aquellos con niveles normales de colesterol HDL.¹⁴⁵

MCP-1 está íntimamente involucrada en la reacción inflamatoria. Esta quimiocina regula la migración de los monocitos en los tejidos y su posterior diferenciación en macrófagos.¹⁴⁶ Un producto final de la peroxidación lipídica (4-hidroxi-2-nonenal) y al menos dos fosfolípidos oxidados presentes en LDL oxidada [1-palmitoil-2-(5-oxovaleroil)-sn-glicero-3-fosforilcolina y 1-palmitoil -2-glutaroil-sn-glicero-3-fosforilcolina] se ha demostrado que estimulan la producción de MCP-1 *in vitro*.¹⁴⁷⁻¹⁴⁹

En un sistema de cocultivo de monocitos humanos y células endoteliales, HDL atenuó la estimulación de la migración de monocitos inducida por LDL oxidada,¹⁵⁰ proporcionando una evidencia indirecta de que las HDL suprimen la producción de

MCP-1. Dado que PON1 actúa como una enzima antioxidante, es razonable considerar que participa en estas funciones anti-inflamatorias de HDL.¹⁵¹ Mackness *et al.*¹⁵² demostraron por primera vez que PON1 inhibe la producción de MCP-1 en las células endoteliales incubadas con LDL oxidada. Estos autores encontraron que las HDL, así como la PON1 recombinante, suprimen la producción de MCP-1 en cultivos de células endoteliales, mientras que la HDL aviar (que, a diferencia de HDL humana, no tiene PON1) fue incapaz de provocar esta reacción. La inhibición de MCP-1 por PON1 parece ser debida a su capacidad para inhibir la oxidación de LDL.

Los estudios experimentales en animales apoyan el concepto de una función anti-inflamatoria de PON1. Los ratones transgénicos (generados por microinyección de clones de genes humanos PON1 en óvulos fertilizados) alimentados con una dieta alta en grasas y colesterol desarrollaron menos lesiones ateroscleróticas, un menor estrés oxidativo, y un 44% menos de expresión de MCP-1 de en sus aortas comparados con sus correspondientes controles.¹⁵³

Estos resultados confirman otros estudios que muestran que ratones PON1^(-/-) tuvieron una mayor peroxidación periférica de lípidos y un mayor grado de estrés oxidativo en macrófagos.¹⁵⁴ Las investigaciones posteriores han demostrado que la función antioxidante y anti-inflamatoria de PON1 es compleja y puede incluir no sólo una inhibición de la peroxidación de los lípidos, sino también un aumento en el eflujo de colesterol de macrófagos vía HDL.

Los estudios en cultivos de macrófagos incubados con HDL derivados de ratones transgénicos para la PON1 humana mostraron que PON1 mejoraba el eflujo de colesterol mediante el aumento de contenido de lisofosfatidilcolina de macrófagos que, a su vez, estimula la acción del transportador *ATP-binding cassette A1* (ABCA1), y

también mejoraba la unión HDL a la células, y de la captación de colesterol por esta lipoproteína.¹²⁹ Además, ratones apolipoproteína A-I^(-/-) y el receptor de LDL^(-/-), tienen menor actividad PON1 en suero, aumento de desarrollo de aterosclerosis, el transporte inverso de colesterol alterado, y un aumento en las concentraciones circulantes de MCP-1.¹⁵⁵

Además, otro estudio demostró que, incluso en ausencia de hiperlipidemia, la deficiencia de PON1 promovía cambios pro-inflamatorios en la expresión de adhesinas.¹⁵⁶

Recientemente, el interés de la investigación se centró en la regulación de la inflamación por la PON1 en modelos experimentales de obesidad y el síndrome metabólico. Los ratones dobles KO para el receptor de las LDL^(-/-) y leptina^(-/-) son modelos del síndrome metabólico, obesidad, dislipidemia, hipertensión y resistencia a la insulina.^{157,158} Estos animales tenían aterosclerosis, aumento de estrés oxidativo, mayor reclutamiento de macrófagos en las placas de ateroma, y una baja actividad PON1 en suero.¹⁵⁷ Por el contrario, en animales transgénicos para el gen *PON1* humana, el volumen de la placa de ateroma, el número absoluto de los macrófagos, y los niveles de LDL oxidadas estuvieron disminuidos, mientras que la actividad de PON1 en suero estaba aumentada.¹⁵⁹

Resumiendo estos datos, parece claro que PON1 inhibe la trans migración de monocitos / macrófagos inducida por el estrés oxidativo, debido a su capacidad de degradar los peróxidos lipídicos y de bajar la producción de MCP-1 por las células endoteliales vasculares y también posee capacidad para aumentar la salida del colesterol del macrófago a través de la síntesis de lisofosfatidilcolina y activación ABCA1. Este

razonamiento proporciona un mecanismo plausible que une la peroxidación de lípidos, la inflamación y las funciones de PON1 y HDL.

La respuesta de fase aguda asociada con muchas enfermedades infecciosas e inflamatorias pueden estar relacionadas con una disminución de la actividad PON1 en el suero y, consecuentemente, a una protección más ineficaz contra el estrés oxidativo. Es bien conocido que al menos tres reactantes de fase aguda, proteína C-reactiva (PCR), proteína sérica amiloide A (SAA) y ceruloplasmina interactúan con las lipoproteínas; PCR se une principalmente a las lipoproteínas que contienen apolipoproteína B, mientras que el SAA y ceruloplasmina se adhieren a HDL.¹⁶⁰ Mientras que en condiciones fisiológicas normales ceruloplasmina es un antioxidante,¹⁶¹ al pH ácido que existe en sitios de inflamación, se convierte en una proteína pro-oxidante.¹⁶² Van Lenten *et al.*¹⁶³ fueron los primeros en demostrar que durante la respuesta de fase aguda, las partículas de HDL se enriquecen en SAA y ceruloplasmina y pierden la apolipoproteína A-I y, como resultado, disminuye la actividad *PON1*, ya que este enzima necesita la apolipoproteína A-I para su actividad. Por tanto, la HDL “de fase aguda” es incapaz de proteger a las LDL de la oxidación *in vitro* y el aumento de la síntesis de MCP-1 en monocitos cultivados. Estas modificaciones en las partículas de HDL las hace incapaces de promover el transporte inverso del colesterol a través de la vía de la ABCA-1.^{164,165}

La molécula de HDL constituye el medio natural para la actividad de la enzima PON1 y la actividad de esta enzima es sensible a las alteraciones en la partícula de HDL. Incluso en HDL normal, la PON1 activa se encuentra en una fracción muy específica de la población de HDL, en la subfracción HDL menos densa de HDL3 que contiene apolipoproteínas E y J.^{166,167} Como se ha comentado anteriormente, la PON1 necesita apolipoproteína AI para su actividad. Por el contrario, la presencia de la apolipoproteína A-II en HDL está asociada con la inactivación de PON1.¹⁶⁸ Además,

HDL “de fase aguda” no sólo inactiva las moléculas PON1 ya sintetizadas, sino que también es capaz de inhibir la expresión génica hepática.^{169,171}

Una línea de investigación muy prometedora es la de evaluar los efectos terapéuticos de péptidos orales miméticos para la apolipoproteína A-I. El péptido mimético 4F contiene sólo 18 aminoácidos, y fue diseñado para contener una hélice anfipática de clase A con un grupo polar y una cara no polar, que le permite unir lípidos, de una manera similar a la apolipoproteína A-I.¹⁷² En varios modelos experimentales, 4F sintetizados a partir de D-aminoácidos (D-4F) y administrados vía oral, causaron la formación de HDL anti-inflamatoria, aumento de la actividad PON1, mayor transporte inverso del colesterol de los macrófagos, y redujeron el grado de aterosclerosis.¹⁷³⁻¹⁷⁷ Este péptido ha comenzado a ser empleado en el ámbito clínico.¹⁷⁸

PON2 Y PON3

Actualmente, no se sabe mucho acerca de las proteínas PON2 y PON3. Sus genes fueron identificados en 1996 cuando Primo-Parmo *et al.*²³ identificó un gran número de secuencias de ADN en la base de datos del genoma con una homología significativa, pero no idéntica, a *PON1* humano. El porcentaje de identidad entre los genes humanos *PON1*, *PON2* y *PON3* es similar (aproximadamente 70%) y los genes se cree que derivan de un precursor común.¹⁷⁹

En los últimos 10 años se ha puesto en evidencia que PON2 y PON3 también poseen propiedades antioxidantes y anti-inflamatorias similares a las de PON1, aunque su papel en las enfermedades humanas está mucho menos estudiado.¹⁸⁰⁻¹⁸⁸

PON1 en las enfermedades humanas

El hallazgo de que PON1 degrada peróxidos de lípidos implica que esta enzima puede influir potencialmente en una gran variedad de enfermedades que conllevan alteraciones en el equilibrio redox y aumento del estrés oxidativo. La literatura sobre el tema se ha incrementado enormemente en los últimos años.¹⁸⁹⁻¹⁹² Algunas enfermedades que se han asociado con alteraciones en la actividad PON1 o sus polimorfismos genéticos son, además de las enfermedades cardiovasculares, la pancreatitis, la enfermedad inflamatoria intestinal, insuficiencia renal crónica, esclerosis lateral amiotrófica, lupus eritematoso, cáncer de mama, cáncer de pulmón, cáncer de próstata, hepatopatía crónica, infertilidad masculina y las infecciones bacterianas.¹⁹³⁻²¹²

Paraoxonasas como agentes antibiofilm

En los últimos años han aumentado de forma exponencial las publicaciones sobre los biofilms, que los señalan como factores importantes en la patogenia de muchas infecciones asociadas a dispositivos médicos implantables.²¹³⁻²¹⁸

Los biofilms se definen como comunidades de microorganismos adheridos a una superficie inerte o a un tejido vivo.²¹⁹ Estas estructuras son adaptaciones evolutivas que permiten a las bacterias sobrevivir en ambientes hostiles y colonizar nuevos nichos ecológicos.^{220,221} Las bacterias que constituyen los biofilms tienen alta resistencia a agentes antimicrobianos, aspecto que representa un importante problema de salud y economico.²²²⁻²²⁴

Los biofilms asociados a dispositivos médicos, como los catéteres venosos centrales (CVC) o las sondas urinarias (SU), pueden ser compuestos de bacterias gram positivas, gram negativas o levaduras. Las características fisicoquímicas del dispositivo, del líquido en contacto con el catéter y la duración de su empleo pueden influir en su formación.^{20,213,225} Passerini *et al.* han demostrado que el 81% de todos los catéteres vasculares colocados entre 1-14 días fueron colonizados por bacterias mediante biofilms.²²⁶ Otros autores destacan que los asociados a catéter urinario al principio pueden ser compuestos de una sola especie, y en exposiciones más largas, por varios gérmenes.²²⁷ Las bacterias, además, se pueden desprender de la biopelícula y entrar en el torrente sanguíneo colonizando nuevos sitios.²²⁸

Para su formación usan el QS, definido como la comunicación y la coordinación del comportamiento bacteriano vía acumulación de señales moleculares, que al alcanzar un umbral crítico, activan o reprimen ciertos genes.²²⁹

Después de sintetizar y secretar en el medio extracelular las moléculas de señal, es posible interferir en su acumulación degradándolas o inactivándolas. *Quorum quenching* (QQ) se define como la interrupción del proceso de QS bacteriano.²³⁰

En bacterias Gram negativas el principal autoinductor es la acilhomoserina lactona (AHL), mientras que en bacterias Gram positivas los autoinductores son péptidos.²³¹ Existen dos tipos de enzimas capaces de degradar las moléculas de señal AHL, las AHL-lactonasas y AHL-acilasas.²³²

Una de las primeras AHL-lactonasas descritas y estudiadas es el *autoinducer inactivation* (AiiA) producida por el *Bacillus sp.* 240B1, Gram positivo, que inactiva AHLs través de la actividad lactonasa.²³³ La administración oral de AiiA produjo una reducción de la virulencia de *Aeromonas hydrophila* en la infección pez cebra,²³⁴ y

también aumentó la susceptibilidad a los antibióticos para películas de *Pseudomonas aeruginosa* multiresistentes al usar tratamiento con lactonasa.²³⁵ Asimismo se demostró que una bacteria aislada en agua marina, *Labrenzia* sp. fue capaz de degradar AHL mediante un mecanismo basado en la actividad de la lactonasa.²³⁶

Las PON son esencialmente lactonasas y artículos recientes muestran que poseen un potencial terapéutico en la lucha contra la formación de biopelículas bacterianas.^{57,223}

Panorama general de los métodos utilizados para medir la actividad y la concentración de PON1

A pesar de la importancia de PON1 en la fisiopatología de muchas enfermedades, la medición de esta enzima se ha restringido, hasta el momento, a laboratorios de investigación y no se ha aplicado ampliamente en laboratorios de química clínica. La razón de esta restricción se debe, fundamentalmente, a las dificultades metodológicas en su medición. Hasta la fecha, los sustratos utilizados para la medición de PON1 son no fisiológicos, algunos sustratos son tóxicos y, además, son inestables. Estos inconvenientes impiden la plena automatización de la medición PON1 y, como tal, raramente se puede justificar la inclusión en paneles de pruebas bioquímicas normalizadas. En la presente sección se describen los principales procedimientos para el análisis de la actividad y la concentración de PON1, y de los avances más recientes en el desarrollo de métodos de rutina viables y confiables.²²

A. Muestras

El suero es la muestra preferida para la medición de la de PON1 circulante ya que la enzima requiere calcio para su actividad y estabilidad. Agentes quelantes tales como EDTA o citrato utilizados como anticoagulantes en plasma inhiben la actividad PON1.²³⁷⁻²³⁹

Las muestras de plasma recogidas con heparina litio son una alternativa aceptable y, a pesar de un informe de que el litio inhibe la actividad PON1,²⁴⁰ varios otros grupos han informado de que las muestras de heparina de litio proporcionan valores de actividad de PON1 comparables a los obtenidos en el suero.^{241,242}

B. Los ensayos de actividad de esterasa

No existen métodos estandarizados para medir la actividad esterasa de PON1. El método más ampliamente utilizado es la hidrólisis de paraoxón, medida por el aumento de la absorbancia a 412 nm. El paraoxón tiene dos grandes inconvenientes: es muy inestable y es extremadamente tóxico. La solución al problema anterior consiste en preparar el reactivo inmediatamente antes de su uso. La toxicidad del paraoxón requiere que todos los procesos de manipulación del sustrato deban realizarse en una cabina con sistema de extracción de aire y que el operador tome precauciones de seguridad apropiadas, tales como el uso de máscaras y guantes para proteger contra la inhalación de los vapores tóxicos o el contacto accidental. El medio de reacción recomendado es de un tampón de glicina (0,05 M, pH = 10,5) con 1 mM de CaCl₂, o un tampón de Tris-HCl (0,1 M, pH = 8,5) con 2 mM CaCl₂. Algunos investigadores añaden NaCl (1 o 2 M) para aumentar la actividad PON1. La temperatura de reacción puede ser de 25 ° C o 37 ° C.^{71,72,243} Las diferencias en los procedimientos implican que los valores obtenidos

a partir de diferentes laboratorios varíen considerablemente, y esto dificulta las comparaciones de resultados.

Otro sustrato ampliamente empleado es fenilacetato.^{71,72,244} Fenilacetato no es tan tóxico como paraoxón, pero también tiene que ser manejado bajo adecuadas condiciones de seguridad. Además, no todos los espectrofotómetros habituales en los laboratorios clínicos tienen un rango de trabajo que incluya los 270 nm. Un procedimiento alternativo utiliza un sustrato más específico, 4 - [(5-metil-2-oxo-1,3-dioxol-4-il) metil-tio] bencenosulfonato. Después de la reacción con PON1 a 25 ° C, el ácido resultante 5-tio-2-nitrobenzoico se monitoriza a 480 nm.²⁴⁵

Se han desarrollado otros ensayos de esterasa contra xenobióticos específicos y se han aplicado con éxito a los estudios toxicológicos. Se han utilizado sustratos tales como los insecticidas diazoxón y clorpirifos-oxón, al igual que los agentes neurotóxicos somán y sarin. Estos métodos analíticos han sido ampliamente descritos por el grupo de Seattle.^{31,243,246-249}

C. Los ensayos de actividad lactonasa

Como hemos descrito, anteriormente, existe una fuerte evidencia que muestra que la actividad nativa de PON1 es lactonasa, y que las lactonas lipofílicas constituyen los sustratos primarios. En el año 2000, Jakubowski describió un método para medir la actividad homocisteínatiolactonasa sérica y demostró que esta enzima coincide con PON1.²⁵⁰ El método empleado, válido para fines de investigación, pero no para aplicaciones de rutina, implica la medición de la formación de [³⁵S]-homocisteína a partir de [³⁵S]-homocisteínatiolactona. La homocisteína se separó por cromatografía en capa fina y se cuantificó por recuento de centelleo.

Los recientes avances en la búsqueda de ensayos fiables de la actividad lactonasa de PON1 pueden facilitar su medición en un laboratorio clínico de rutina. El grupo de Rehovot, Israel, describió dos nuevas pruebas basadas en la actividad lactonasa de PON1.^{251,252} Uno de los métodos emplea 5-tiobutil butirolactona (TBBL) como sustrato. TBBL es una lactona cromogénica sintética que supeitamente se parece al sustrato natural de PON1. El método permite medir la actividad PON1 usando un sustrato más “fisiológicamente similar”. La medición lactonasa se correlaciona bien con los niveles del complejo PON1-HDL y proporciona una buena indicación de los niveles y la calidad de las partículas de HDL a las que se adjunta la enzima.^{252,253} El reactivo de incubación contiene 1 mM CaCl₂, 0,25 TBBL mM, y 0,5 mM de 5,5'-ditio-bis-nitrobenzoico en 0,05 mM de tampón Tris-HCl (pH = 8,0).

La reacción se realiza a 25 ° C y el cambio en la absorbancia se monitoriza a 412 nm. El otro método emplea 7-O-dietil fosforilo 3-ciano 4-metil 7-hidroxycumarina (DEPCyMC) como sustrato, y los autores sugieren que es una buena estimación de la concentración total de PON1, ya sea unido, o no, a las HDL. El reactivo de incubación contiene 1 mM CaCl₂ y 1 mM DEPCyMC, en 50 mM bis-trispropano (pH = 9,0). La reacción se realiza a 25 ° C y el cambio en la absorbancia se monitoriza a 400 nm.

Estos métodos tienen dos ventajas principales sobre los ensayos de esterasa. En primer lugar, que miden un tipo de actividad PON1 que es fisiológicamente más válido que el medido por los ensayos de esterasa. En segundo lugar, los sustratos TBBL, DEPCyMC no son tóxicos. Si estos métodos se comercializan, y esperamos que esto sucederá pronto, serán probablemente el método más conveniente y actualizado para la medición rutinaria de la actividad PON1 en suero.

D. Medición de la concentración sérica de PON1

Durante la década de los años 1990, algunos grupos de investigación generaron anticuerpos monoclonales o policlonales contra PON1 purificada.²⁵³⁻²⁵⁷ Estos anticuerpos se emplearon en el desarrollo de métodos de ELISA para la medición de la concentración de PON1 en suero y también en estudios inmunohistoquímicos.²⁵⁸⁻²⁶⁰ El problema asociado con estos métodos es que la calidad de los anticuerpos obtenidos era muy variable y debido a la homología de secuencia, los anticuerpos a menudo presentaban reacciones cruzadas con PON2 y PON3. Para evitar este inconveniente, investigadores en Los Ángeles y en Manchester generaron anticuerpos policlonales obtenidos a partir de un péptido sintético con una secuencia específica derivada de la PON1 madura.^{29,78}

Este procedimiento permite una mejor estandarización y es el empleado en la presente Tesis Doctoral.

MARCADORES DE INFECCIÓN

Los marcadores de inflamación pueden diferenciar procesos infecciosos de los que no lo son y también predecir la gravedad de un proceso patológico o enfermedad, permitiendo iniciar un plan terapéutico adecuado y medir su respuesta.²⁶¹⁻²⁶³ Estos parámetros son inespecíficos, dado que pueden elevarse en respuesta a cualquier tipo de estímulo inflamatorio: enfermedades autoinmunes, neoplasias, situaciones de estrés tales como traumatismos, quemaduras, intervenciones quirúrgicas, etc.

El diagnóstico de seguridad de infección bacteriana es microbiológico, sin embargo, en un gran número de casos los resultados no son inmediatos ya que no siempre es posible conseguir muestras adecuadas del foco de infección. Por todo ello, la valoración se basa inicialmente en los datos clínicos y en resultados de biomarcadores.

Definiciones

*U.S. National Institute of Health*²⁶⁴ define biomarcador como una característica biológica medida objetivamente y usada como indicador para un proceso fisiológico o patológico, o de la actividad de un medicamento.

Entre los marcadores de infección más utilizados destacan la proteína C reactiva (PCR) y la procalcitonina (PCT).

La **proteína C reactiva** es una proteína que se sintetiza en los hepatocitos, estimulada principalmente por la interleucina 6, la interleucina -1β , y por el factor de necrosis tumoral α , como respuesta a una infección o a una inflamación tisular. La PCR

aumenta en procesos inflamatorios, infecciones, traumatismos, quemaduras, infartos tisulares y neoplasias.²⁶⁵

La PCR se empieza a elevar a las 4–6h tras el estímulo y alcanza valores máximos tras las 36–50h, lo que en ocasiones retrasa el inicio del tratamiento antimicrobiano.²⁶⁶ La vida media de la PCR es larga, y puede mantenerse elevada incluso días después de finalizado el proceso inflamatorio, presentando limitaciones para la monitorización terapéutica y pronóstica a corto plazo.

La **procalcitonina (PCT)** es un polipéptido de 116 aminoácidos, precursor de la calcitonina, codificada por el gen *Calc-I* en el cromosoma 11 y se produce en diversos órganos y tipos celulares, en respuesta a estímulos proinflamatorios, particularmente de origen bacteriano. En condiciones normales, la transcripción de dicho gen está suprimida a excepción de las células neuroendocrinas de pulmón y tiroides.²⁶⁷ Experimenta un incremento precoz en torno a las 3-6 h tras el estímulo inflamatorio, y su regreso a valores normales es más rápido que otros marcadores, siendo su vida media en plasma de 25-30 horas aproximadamente.^{268,269}

Se detectaron niveles séricos de PCT elevados en pacientes con infecciones durante la década de 1990, y desde entonces, numerosos estudios han investigado el papel potencial de la PCT en el diagnóstico y manejo de infecciones locales y sistémicas.²⁷⁰⁻²⁷² Se considera que la PCT es superior a la PCR para: detectar de forma precoz infecciones bacterianas y distinguir entre infección bacteriana sistémica o localizada y también entre infecciones bacterianas y causas no infecciosas de inflamación.²⁷³⁻²⁷⁵ La PCT aumenta en procesos infecciosos, inflamatorios, postoperatorios, neoplasia, traumatismos, quemaduras, shock cardiogénico, rechazo agudo de un órgano trasplantado.^{274,276-283} PCT es un parámetro prometedor para la

predicción de bacteriemia,²⁸⁴⁻²⁸⁶ para el diagnóstico y pronóstico de infecciones relacionadas con catéter vascular central,²⁸⁷ para la carga bacteriana en los pacientes con infección febril del tracto urinario²⁸⁸ y bacteriuria asintomática.²⁸⁹

Los niveles de estos parámetros tienen implicaciones pronósticas y pueden ser utilizados como valiosas herramientas. Es fundamental tener en cuenta que los puntos de corte se tienen que adaptar a diferentes contextos clínicos, e interpretarlos junto a una evaluación clínica y microbiológica cuidadosa.

INFECCIÓN RELACIONADA CON EL CATÉTER VENOSO CENTRAL

El uso de CVC es una parte integral de la atención sanitaria moderna en todo el mundo, ya que permite disponer de accesos vasculares para la extracción de muestras analíticas, la administración de tratamientos medicamentosos intravenosos, nutrición parenteral, así como facilitar el acceso para la hemodiálisis y para la monitorización hemodinámica.

La utilización de los catéteres intravenosos no es inocua y conlleva riesgos, principalmente de origen infeccioso,^{290,291} y se asocian con un aumento de la morbilidad, mortalidad y costes sanitarios.^{292,293}

Definiciones

El *National Healthcare Safety Network* define un **catéter venoso central** como “un catéter intravascular que termina en o cerca del corazón o en uno de los grandes vasos, que se utiliza para la infusión, extracción de sangre o monitorización hemodinámica”. Los grandes vasos son la aorta, arteria pulmonar, vena cava superior, vena cava inferior, venas braquiocefálicas, venas yugulares internas, venas subclavias, venas ilíacas externas, las venas ilíacas comunes, venas femorales, y, en los recién nacidos, la arteria/vena umbilical.²⁹⁴

En la presente Tesis Doctoral hemos empleado definiciones clínicas para las infecciones relacionadas con CVC:²⁹⁵⁻²⁹⁷

Infecciones localizadas

- Colonización del catéter: Aislamiento significativo en la punta de catéter de ≥ 15 UFC de bacterias según método semicuantitativo.

- Infección punto de inserción: Eritema, dolor, induración o secreción purulenta en 2 cm alrededor del punto de inserción catéter

- Flebitis: Presencia de cordón venoso a la palpación, con dolor y calor locales. Es más frecuente en catéteres centrales de inserción periférica.

- Infección del túnel o reservorio subcutáneo: Signos locales de infección como eritema, calor, induración o dolor a lo largo del trayecto subcutáneo del catéter, más de 2 cm a partir del punto de inserción o alrededor de la piel que cubre el reservorio.

Infecciones sistémicas relacionadas con el catéter venoso

- Bacteriemia (o fungemia) relacionada con los líquidos de infusión: Cuadro clínico de sepsis, sin otro foco aparente de infección, con aislamiento del mismo microorganismo en el líquido de infusión y en el hemocultivo extraído por vía percutánea.

- Bacteriemia / fungemia en un paciente con un catéter intravascular con al menos un hemocultivo positivo obtenido de una vena periférica, manifestaciones clínicas de infección (por ejemplo, fiebre, escalofríos, y / o hipotensión), y ninguna fuente aparente, excepto el catéter. Uno de los siguientes deben estar presentes: Un cultivo positivo semicuantitativo del catéter (≥ 15 UFC) o cuantitativo ($>10^3$ UFC) con el mismo microorganismo (especie y antibiograma), aislado del segmento del catéter y

de la sangre periférica, hemocultivos cuantitativos simultáneos con una relación de >3:1 extraídos del CVC frente a la extracción de sangre periférica; positividad del hemocultivo extraído del CVC con más de 2 horas de antelación frente al hemocultivo extraído por sangre periférica.

Clasificación de los catéteres

Existen numerosos tipos de catéteres o dispositivos intravasculares con características y finalidades diferentes (Tabla 1).^{295,298}

Un catéter puede ser clasificado en función del vaso que ocupa (por ejemplo, venoso periférico, venoso central o arterial); su duración prevista de vida (por ejemplo, temporales *versus* permanentes), su lugar de inserción (por ejemplo, subclavia, femoral, yugular, periférico, y el catéter central de inserción periférica [PICC]), si sigue un trayecto tunelizado o no, su longitud, o alguna característica especial del mismo catéter como por ejemplo si esta impregnado o no de heparina, antibióticos o antisépticos, el número de luces o si esta dotado de manguito o no.

El tipo de catéter elegido depende de las necesidades específicas de cada paciente, incluyendo la duración y la frecuencia de uso.

Tabla 1. Tipos de catéteres intravasculares más utilizados en clínica.

Tipo	Comentarios
Catéter venoso periférico (cortos, medianos)	Se usa en venas del brazo. Es el catéter más utilizado. Produce escasas complicaciones infecciosas.
Catéter arterial periférico	Se usa para evaluar el estado hemodinámico durante periodos cortos. Riesgo de infección similar al CVC.
CVC no tunelizado	Es el CVC más utilizado. Produce el 90% de las complicaciones infecciosas asociadas a catéteres
Catéter arterial pulmonar	Se mantiene por periodos no superiores a 3 días. Suele estar recubierto de heparina, lo que disminuye los fenómenos trombóticos y la colonización bacteriana.
CVC insertado por vía periférica	Es la alternativa al CVC normal. Se inserta a través de vía periférica en la vena cava. Presenta menos complicaciones que los CVC normales.
CVC tunelizado	CVC implantado quirúrgicamente (Hickman, Broviac, etc). Tiene un trayecto subcutáneo con un manguito de dacron en el punto de salida cutánea que impide la entrada de microorganismos del exterior. Se usa para quimioterapia prolongada, terapia ambulatoria o hemodiálisis.
Reservorios implantados	Reservorio subcutáneo con una membrana que permite el acceso con aguja desde el exterior. Bajo riesgo de infección.

Epidemiología

Según datos del Estudio de Prevalencia de las Infecciones Nosocomiales en España (EPINE),²⁹⁹ el 77% de los pacientes hospitalizados son portadores de un catéter vascular. La prevalencia de pacientes con infección nosocomial asociada a su uso es de 33%.

La mayoría de estos catéteres están colocados en venas periféricas, situación con poco riesgo potencial de complicaciones infecciosas por su corto periodo de utilización. En más del 10% de los casos los catéteres se colocan en venas centrales o en arterias²⁹⁹ durante periodos prolongados de tiempo con un riesgo elevado de complicaciones infecciosas locales o sistémicas que varían en función del tipo de catéter.

Los datos de vigilancia prospectiva de bacteriemia de catéter aportados por el programa VINCAT (Vigilancia de las infecciones nosocomiales en los hospitales de Catalunya) durante el año 2012, que incluye 43 centros de características diferentes, recogió 541 episodios relacionados con catéter central con una incidencia acumulada de 0.17 por mil estadas.³⁰⁰

En relación con la **etiología**, de los datos presentados, destacan que globalmente los cocos gram positivos fueron los microorganismos identificados con más frecuencia (60%), seguidos de bacilos gram negativos, hongos.^{297,301}

Factores de riesgo para infecciones relacionadas con catéteres

vasculares

Se clasifican en intrínsecos o relacionados con el huésped, y extrínsecos o relacionados con el tipo de catéter y los procedimientos de inserción y de mantenimiento.^{291,302,303}

Factores de riesgo intrínsecos

Son difícilmente modificables y tienen relación con el huésped. Los más significativos son las edades extremas, enfermedad crónica, desnutrición, administración de nutrición parenteral, pérdida de integridad cutánea (quemados), inmunodeficiencia, neutropenia, trasplante de médula ósea.

Factores de riesgo extrínsecos

El riesgo de infección varía según el tipo de catéter vascular. Para los catéteres venosos centrales se asocia con más riesgo: la inserción femoral comparando con la yugular o subclavia, nutrición parenteral, la inserción con medidas de barrera subóptimas, la cateterización repetida durante la misma hospitalización, intentos repetidos de cateterización en la misma inserción, cuando hay foco séptico a distancia, duración prolongada del cateterismo, uso catéter multilumen, inserción urgente, en cuidados intensivos o en el servicio de urgencias, contaminación microbiana de la conexión o del punto de inserción.

Patogenia

Las bacteriemias por catéter se producen porque los microorganismos colonizan el catéter, por vía intraluminal o extraluminal, y acceden al torrente sanguíneo (Figura 5).³⁰⁴⁻³⁰⁶

En la contaminación intraluminal, los microorganismos entran con la infusión o debido a las manipulaciones de las conexiones de los equipos de infusión; colonizan o infectan la luz del catéter y pasan al torrente sanguíneo.

En la contaminación extraluminal, los microorganismos migran a lo largo de la superficie externa del catéter desde el orificio de entrada en la piel hasta llegar a la punta y al torrente sanguíneo.

De manera infrecuente, pueden adherirse directamente a la punta del catéter después de circular en la sangre desde un foco de bacteriemia distante, y posteriormente, aunque desaparezca el foco primario, pueden actuar como un nuevo foco de bacteriemia secundaria.

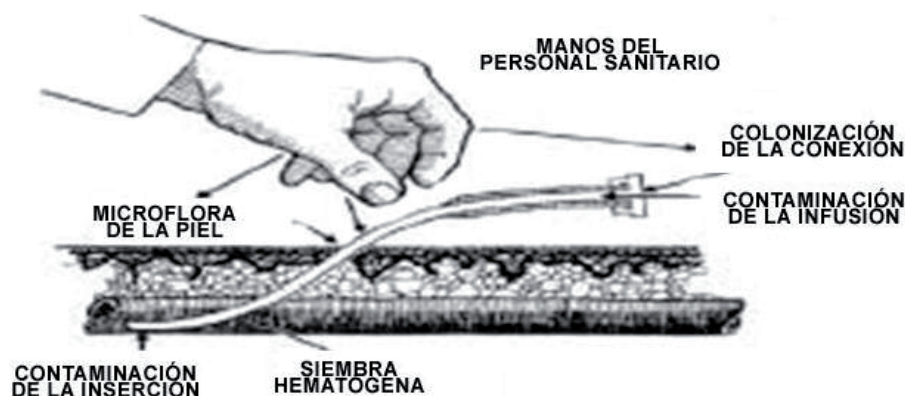


Figura 5. Potenciales orígenes de la infección relacionada con el catéter intravascular (CVC): la flora de la piel, contaminación de la conexión del catéter y del lumen, del líquido de infusión, y la colonización hematogena del CVC desde un foco de bacteriemia distante. Modificada de Crnich³⁰⁷

Después de insertar el catéter en el torrente sanguíneo, las proteínas plasmáticas comienzan a adherirse formando una capa de fibrina alrededor del catéter.³⁰⁶ Cuando los microorganismos llegan a la superficie intraluminal o extraluminal del catéter, se

adhieren de manera irreversible produciendo biofilm que incorpora los microorganismos y proporciona protección contra las defensas del huésped (leucocitos polimorfonucleares) y antibióticos. La dispersión de microorganismos de estas biopelículas origina la diseminación hematógena de la bacteria.^{307,308}

Diagnóstico

La aproximación diagnóstica de las infecciones relacionadas con el catéter se basa en la evaluación clínica y la confirmación microbiológica.

1. Diagnóstico clínico

Los cultivos microbiológicos positivos pueden deberse únicamente a la colonización del catéter y requieren una interpretación clínica para determinar si existe infección.

Se tiene que sospechar bacteriemia por infección del catéter vascular cuando un paciente portador de CVC presenta bacteriemia y no tiene otro foco aparente de infección. Las manifestaciones clínicas son producidas por la liberación de mediadores de inflamación como respuesta a la presencia de microorganismos en sangre. Son inespecíficas, como fiebre, escalofríos, taquicardia, taquipnea, leucocitosis. En situaciones de más gravedad se pueden acompañar de inestabilidad hemodinámica, alteración del nivel de consciencia y disfunción orgánica grave.³⁰¹

Algunos datos pueden sugerir el diagnóstico de bacteriemia relacionada con el catéter vascular. La presencia de infección del punto de inserción o de flebitis es frecuente en pacientes con bacteriemia por catéter central de inserción periférica pero pueden ser inapreciables en pacientes que reciben tratamiento esteroideal. La disfunción del CVC por la formación de trombo intraluminal, inicio abrupto de síntomas al comenzar la infusión por el catéter o la presencia de determinados microorganismos en los hemocultivos como *Staphylococcus aureus* o las candidas tienen que elevar la sospecha diagnóstica ante ausencia de otro foco de infección. También, la mejoría rápida durante las primeras 24 horas de la retirada del CVC sugiere, en ausencia de otro foco, el diagnóstico de bacteriemia por catéter. Su dificultad viene determinada por ser poco frecuente la aparición de signos inflamatorios externos, por las limitaciones de extracción y análisis de los hemocultivos periféricos y por la necesidad puntual de preservar el catéter.

2. Diagnóstico microbiológico

Se puede realizar tanto sobre catéteres retirados como utilizando métodos diagnósticos que permiten conservarlos hasta la confirmación diagnóstica.^{301,304}

2.1 Sobre catéteres retirados

Cultivo de la punta de catéter

- Cultivo semicuantitativo, es el método de referencia más ampliamente usado, se cultiva la superficie externa del catéter.

- Cultivo cualitativo es una técnica en desuso, no permite diferenciar entre colonización significativa del catéter o contaminación accidental.

- Cultivos cuantitativos del segmento de catéter, permiten detectar microorganismos tanto en la superficie externa como interna del catéter.

- Técnicas de diagnóstico rápido por tinción de la punta del catéter que utilizan la tinción de Gram y la de naranja de acridina. Los catéteres, tras ser teñidos, se observan directamente al microscopio.

2. 2 Catéteres no retirados

Teniendo en cuenta la obvia limitación que supone el depender del cultivo de la punta de catéter para el diagnóstico certero, se han desarrollado otras “técnicas conservadoras”.

- Cultivos superficiales semicuantitativos
- Hemocultivos cuantitativos simultáneos
- Tiempo diferencial de crecimiento
- Tinción de naranja de acridina de leucocitos centrifugados
- Cepillado intraluminal

2. 3 Hemocultivos

Ante sospecha clínica, se tienen que extraer hemocultivos, uno de sangre periférica (dos en caso de sospecha de endocarditis) y otro procedente de catéter antes de iniciar el tratamiento antibiótico, etiquetándolos de forma que reflejen el origen de la muestra.

BACTERIURIA ASINTOMÁTICA ASOCIADA A CATÉTERES URINARIOS (BARSU)

La bacteriuria asociada a catéteres urinarios es la infección más frecuente asociada al sistema sanitario a escala mundial, como resultado del uso generalizado de la cateterización urinaria, en ocasiones no apropiada. Tiene importantes implicaciones, tanto para el paciente como para su entorno. Se invierte mucho tiempo y también importantes recursos, tanto económicos como profesionales, para reducir la tasa de infecciones asociadas a catéter, especialmente las que se producen en los pacientes con síntomas o signos atribuibles al tracto urinario.³⁰⁹⁻³¹⁶

El tratamiento empírico es complejo, los pacientes portadores de sonda urinaria (SU) son un importante reservorio de microorganismos multirresistentes, que a menudo están relacionados con el tratamiento no adecuado de la bacteriuria asintomática (BA).³¹⁷ En estos individuos las manifestaciones clínicas son poco definidas y el diagnóstico puede resultar difícil.

Definiciones

La **cateterización urinaria** se define como la inserción en la vejiga urinaria de un tubo de plástico vía uretral, que permite eliminar, guardar y medir la orina. También se pueden usar para inyectar fluidos, para tratar o diagnosticar enfermedades del tracto urinario.³¹⁸

El término infección tracto urinario (ITU) se refiere a la presencia de patógenos microbianos en el tracto urinario, incluyendo los riñones, uréteres, vejiga y uretra. ITU cubre una amplia gama de enfermedades, como la bacteriuria asintomática, sintomática,

uretritis o cistitis, epididimitis, pielonefritis, bacteriemia asintomática y sepsis urinaria.³¹⁹

Se considera como **ITU relacionada con el cateterismo urinario** la que se presenta durante la permanencia de la sonda urinaria (SU) o en las siguientes 72 h tras su retirada.³¹³

Bacteriuria asintomática asociada al cateterismo se define por la presencia de $\geq 10^5$ ufc/ml de más de una especie bacteriana en una muestra de orina de un paciente sin síntomas compatibles con ITU.^{309,320} Estos signos y síntomas incluyen fiebre, escalofríos, desorientación, malestar general sin otra causa identificada, dolor en el costado, o en el ángulo costo vertebral, hematuria aguda, molestia pélvica; en los que se retiró el catéter, disuria, urgencia, necesidad frecuente de orinar, o dolor suprapúbico.³⁰⁹ Determinar si la bacteriuria representa la colonización o infección real es difícil y, de hecho, controvertido. En un estudio de internos de edad avanzada en una residencia, sólo una pequeña proporción (4% a 8%) de las personas con fiebre y bacteriuria tenían signos clínicos de ITU, diagnóstico aún más difícil en residentes con deterioro cognitivo.³¹⁵

Sistema de drenaje cerrado se define cuando no se produce ninguna desconexión entre la unión de la SU con la bolsa recolectora; **cateterismo único** cuando se realiza una sola inserción uretral sin dejar la sonda en la vejiga urinaria (suele realizarse para descartar obstrucción, para medir el volumen urinario o para obtener una muestra urinaria); se considera **cateterismo intermitente** la realización de repetidas inserciones uretrales sin dejar la SU en la vejiga (habitualmente en pacientes afectados de vejiga neurógena y con el objetivo de vaciarla).³¹³

Los diversos **tipos de catéteres** incluyen: sonda permanente, sonda intermitente,

drenaje suprapúbico, condón externo, catéter preconectado, y la irrigación continua.³¹⁸

El cateterismo se clasifica como: de **corta duración** (menos de 30 días) o de **larga duración** (más de 30 días).³²¹

Epidemiología

La prevalencia de pacientes con SU en la comunidad oscila entre el 0,02 y el 0,07%, porcentaje que aumenta al 4% en la población anciana asistida, hasta el 20% de internos en residencias geriátricas, y es superior al 35% si existe incontinencia urinaria asociada. En este grupo, la mayoría de los episodios de bacteriuria son asintomáticos, el riesgo de bacteriemia es 60 veces superior al de los pacientes no cateterizados, y hasta el 30% conducen a complicaciones, incluso sepsis y muerte.^{322,323} Los cateterismos urinarios se han convertido en herramientas esenciales para la Medicina moderna, la prevalencia es de 12-25% en los pacientes ingresados en hospitales de agudos y al 85% o más en los atendidos en unidades de cuidado intensivo, al menos el 80% de las infecciones urinarias asociadas a la atención de salud son causados por la cateterización de las vías urinarias.^{309,312,323,324}

Debido a que la inserción de catéteres urinarios es un procedimiento invasivo que pasa las líneas naturales de defensa del cuerpo, estos pacientes están en riesgo de desarrollar infecciones del tracto urinario.

Las tasas de ITU en pacientes portadores de SU varían sustancialmente, desde 1,2 hasta 14,4 infecciones por cada 1.000 días de catéter en hospitales de Estados Unidos.³²⁸ Si se utiliza un sistema de drenaje cerrado, la incidencia de bacteriuria es del 3–10%/día y a los 30 días casi el 100% de los pacientes presentan bacteriuria. Si se utiliza un sistema abierto, se detecta bacteriuria asintomática en casi el 100% de los

pacientes a las 72 horas.^{321,323}

Varios **factores de riesgo** se han asociado con un riesgo superior de BA e ITU sintomática en los pacientes con cateterización urinaria:^{313,318}

- **Intrínsecos:** Sexo femenino, edad superior a 50 años, diabetes mellitus, insuficiencia renal (creatinina > 2 mg/dl), antecedentes de neoplasia, tratamiento inmunosupresor (en las últimas dos semanas o corticoides en los últimos 7 días), ingreso por enfermedad no quirúrgica.

- **Extrínsecos:** Duración del cateterismo, ingreso en servicio de urología u ortopedia, presencia de un catéter uretral, presencia de colonización uretral por uropatógenos, colonización de la bolsa recolectora, ausencia de urinómetro, desconexiones inadvertidas o erróneas del sistema de drenaje cerrado del catéter, cateterización después del sexto día de hospitalización, inserción de la sonda sin técnica estéril, cuidados inadecuados del sondaje urinario.

Patogenia

El tracto urinario tiene unos mecanismos de defensa innatos que evitan la colonización de la vejiga urinaria incluyendo la longitud de la uretra y la propia micción. En el paciente sondado el bulbo de la sonda impide el vaciamiento completo de la misma, quedando orina residual.³¹⁰

Por otro lado, el tracto urinario secreta inhibidores de la adhesión bacteriana como la proteína de Tamm-Horsfall y diversos mucopolisacáridos. Además, la

osmolaridad urinaria y el pH inhiben el crecimiento urinario. Se ha observado que el cateterismo urinario interfiere con estos mecanismos de defensa.³¹³

También parece que las células uroepiteliales de pacientes cateterizados son más receptivas a la unión de bacterias justo antes de la aparición de la infección.³²⁶

Los pacientes presentan mayor riesgo de bacteriuria durante al menos 24 h, incluso después de la retirada del catéter,³²⁷ lo que sugiere que la colonización de la uretra persiste después de retirar el catéter.

Las complicaciones del sondaje de larga duración, además de la bacteriuria, incluyen la infección del tracto urinario inferior y superior, bacteriemia, episodios febriles frecuentes, obstrucción de la sonda, formación de cálculos vesicales y renales asociados a la producción de ureasa por parte de los uropatógenos, formación de fístulas, incontinencia y cáncer vesical.³²¹

El acceso de uropatógenos a la vejiga se puede producir por tres mecanismos:^{309,328,329}

- a) En el momento de la inserción se introduce en la vejiga un inóculo de bacterias (microflora fecal o de la piel);
- b) A través de la vía intraluminal de patógenos a la vejiga si el tubo colector o la bolsa de drenaje se han contaminado, impide el vaciado completo de la vejiga, y proporciona un cuerpo extraño manipulado con frecuencia a través de las manos del personal;
- c) Por vía exoluminal, el mecanismo más frecuente, responsable de dos tercios de las ITU asociadas a cateterización urinaria. (Figura 6)

Los microorganismos colonizan el meato uretral vía exoluminal ascendente, formando biofilm formado alrededor del catéter uretral; en pacientes sin bacteriuria se

observan biopelículas en una semana, mientras que en pacientes con bacteriuria este lapso se acorta a 3 días. Las biopelículas microbianas son muy resistentes a la acción bactericida de los antibióticos y antisépticos, y constituyen un reservorio a partir del cual se inocula continuamente en la orina vesical.³²¹

Se ha demostrado que en pacientes con BA recidivante por el mismo microorganismo, en los cuales se cambia la SU, el reservorio sería el propio tracto urinario, al haberse demostrado la capacidad de los microorganismos de sobrevivir en el interior de las células uroepiteliales, donde también formarían biofilms.^{330,331}

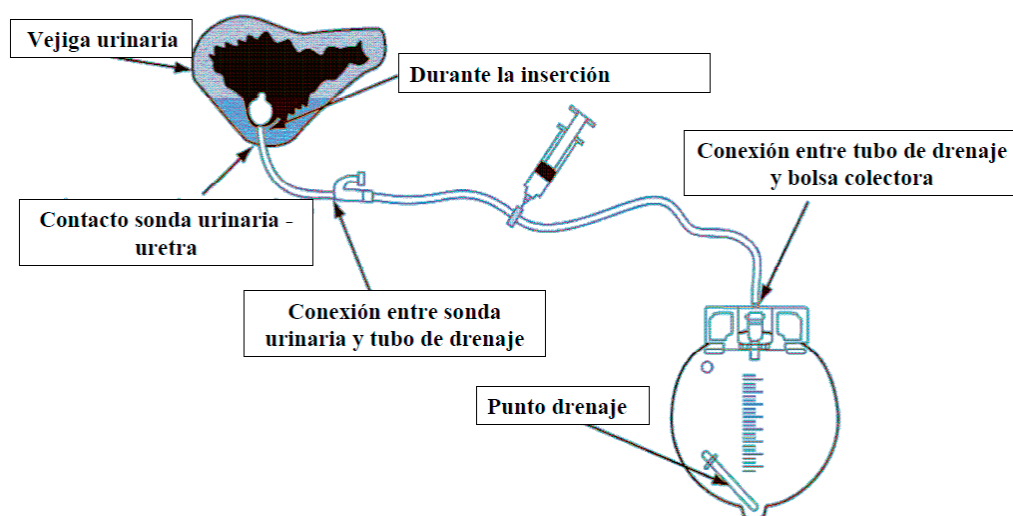


Figura 6. Orígenes potenciales de la infección relacionada con sonda urinaria. Adaptado de Joint Commission: The toolkit for preventing healthcare-associated infections. Oak Brook, IL: Joint Commission Resources, 2010.

Etiología

Los microorganismos causales de la ITU del sondado proceden de la propia flora del paciente, modificada con frecuencia (especialmente en el sondado permanente) por la presión antibiótica y la transmisión cruzada por las manos del personal sanitario.

La infección inicial en el paciente con cateterismo corto suele ser monomicrobiana y causada en la mayoría de las ocasiones por *E. coli* u otras enterobacterias. Con menor frecuencia se aísla *P. aeruginosa*, enterococos, *Candida* spp. o un microorganismo multirresistente.³¹³

Si el cateterismo es prolongado, la ITU suele ser polimicrobiana³³² (15% en el sondado corto y hasta el 95% en el prolongado).

Diagnóstico

BA implica bacteriuria significativa en pacientes sin signos o síntomas atribuibles al tracto urinario.^{309,323}

Los pacientes con ITUs sintomáticas presentan signos específicos, como: fiebre, dolor al orinar, urgencia o frecuencia miccional, urocultivo positivo, sensibilidad suprapúbica o dolor costovertebral.³¹⁸

Antes de iniciar un tratamiento antibiótico, en las ITUs asociadas a cateterización urinaria se recomienda solicitar siempre un urocultivo.

Varios estudios realizados en pacientes con bajos recuentos bacterianos (10^2 - 10^4 UFC/ml) en muestras obtenidas a través de catéter vesical, observaron un incremento significativo del número de bacterias en la orina (hasta más de 10^5 UFC/ml) al cabo de 1-3 días, lo que confirmó que estas bacteriurias de bajo grado son significativas en estos pacientes,^{333,334} pero como criterio de BA se mantiene el valor de más de 10^5 UFC/ml.³¹³

Hipótesis

HIPÓTESIS

Las enfermedades infecciosas constituyen la primera causa de morbilidad a nivel mundial, por ello el tratamiento adecuado y oportuno de las mismas tendrá un impacto importante en los índices de salud. Las infecciones asociadas a atención sanitaria suponen un subgrupo singular, tanto por afectar a pacientes especialmente críticos, como por el perfil microbiológico de las mismas. Numerosos pacientes están sujetos a la inserción de catéteres y sondas que facilitan la invasión de gérmenes nosocomiales, con frecuencia multiresistentes. El hallazgo de marcadores o indicadores pronóstico puede facilitar la toma de decisiones, reducir la hospitalización y mejorar la tasa de curaciones.

Se han descrito alteraciones en los niveles circulantes de PON1 en varias enfermedades infecciosas e inflamatorias que implican estrés oxidativo y también ha descrito que PON1 inhibe la formación de biofilms bacterianos mediante la degradación de las AHL que intervienen en el QS.

La relación entre infección, inflamación, el estrés oxidativo, y las funciones de la PON1 podría tener repercusiones clínicas y podría ser un posible objetivo terapéutico.

Por todo ello, formulamos la siguiente hipótesis: La actividad y la concentración de PON1 constituyen marcadores predictivos fiables de infección en pacientes con infecciones relacionadas con catéteres. Estas determinaciones podrían encontrar una finalidad curativa.



Objetivos

OBJETIVOS

- 1) Investigar la existencia de diferencias genotípicas de *PON1* en pacientes portadores de catéteres respecto a una población control no portadora de catéteres.
- 2) Investigar diferencias entre la actividad y la concentración de PON1 en pacientes portadores de catéter con/sin infección asociada respecto a una población control no portadora de catéteres.
- 3) Determinar niveles plasmáticos de PON1, MCP-1, PCR, procalcitonina en los pacientes portadores de catéter.
- 4) Investigar la relación entre las determinaciones de PON1, MCP-1, PCR, procalcitonina y los antecedentes patológicos de los pacientes.
- 5) Investigar la relación entre las determinaciones de PON1, MCP-1, PCR, procalcitonina y la gravedad de la infección y la presencia de la colonización bacteriana o fúngica de los catéteres.



Material y Métodos

MATERIAL Y MÉTODOS

Participantes y diseño

Se realizó un estudio prospectivo, analítico y observacional. La población total estudiada fue de 300 participantes portadores de catéter (catéter venoso central o de sonda vesical), procedentes del Hospital Universitari Sant Joan de Reus.

Los investigadores contaban con la colaboración del personal sanitario que avisaba de la retirada del CVC o SU en los pacientes hospitalizados. La decisión de retirar los catéteres fue según el criterio del facultativo responsable de cada paciente, debido a la sospecha de una infección relacionada^{295-297,313,320} con el mismo o bien porque ya no era necesario su uso.

En todos los sujetos incluidos en el estudio, se realizó, previa firma del consentimiento informado, una anamnesis y exploración clínica completa. Se evaluó la comorbilidad de los pacientes según el Índice de Charlson (versión abreviada)³³⁵ y la gravedad según la Puntuación McCabe y Jackson³³⁶ (ver Anexo I). Asimismo, en función del catéter extraído, se llevaron a cabo las exploraciones siguientes:

1) En los casos de retirada de catéter venoso central: Extracción sanguínea para la realización de las determinaciones bioquímicas objeto de la presente investigación y análisis del catéter extraído en el Laboratorio de Microbiología.

2) En caso de retirada de la sonda vesical: Extracción sanguínea, sedimento y cultivo de orina.

Diseño del estudio: Se realizó un estudio prospectivo para investigar la posible existencia de diferencias entre la actividad y concentración de PON1 y sus principales polimorfismos genéticos entre los pacientes portadores de catéter y el grupo control.

Criterios de inclusión: Pacientes portadores de catéteres durante su ingreso, a los que se les tuvo que retirar uno de estos dispositivos durante su estancia en el Hospital Universitari Sant Joan de Reus debido a la sospecha de una infección relacionada con el catéter o bien dado que no se requería su uso, incluyendo en el estudio solo un catéter por paciente.

Criterios de exclusión del grupo caso: Menores de 18 años, o pacientes con enfermedades psiquiátricas, alcoholismo grave, accidente cerebrovascular agudo en los últimos 6 meses, cirrosis hepática o diálisis.

Criterios de exclusión de los pacientes incluidos en el estudio: Abandono voluntario del estudio.

El primer paciente reclutado se incluyó en marzo de 2011, el último en junio 2013.

El grupo control estuvo formado por 407 voluntarios sanos que participaron en un estudio epidemiológico desarrollado en nuestro área geográfica. En resumen se trata de participantes de origen caucásico provenientes de la región de Cataluña (175 hombres y 232 mujeres) con una media de edad de 46 años (rango de 26 a 74 años). Los voluntarios no presentaron evidencia de insuficiencia renal, daño hepático, neoplasia o alteraciones mentales.

Variables del estudio:

- 1) Datos antropométricos: edad, sexo.
- 2) Hábitos tóxicos.
- 3) Antecedentes patológicos (diabetes mellitus, hipertensión arterial, dislipemia, ictus, cardiopatía isquémica, insuficiencia renal, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), neoplasia, nuevo diagnóstico de neoplasia durante 6 meses postestudio, procedimiento quirúrgico durante la semana previa al estudio.
- 4) Índice Charlson (versión abreviada).
- 5) Puntuación McCabe y Jackson.
- 6) Tratamiento con antibióticos durante el ingreso.³³⁷
- 7) Tratamiento inmunosupresor³³⁸ (ciclosporina, micofenolato, tacrolímús, metotrexato, azatioprina, anticuerpos mono y policlonales en las últimas dos semanas; corticosteroides durante los últimos 7 días).
- 8) Motivo de ingreso.
- 9) Tipo y punto de inserción de los catéteres en el momento de realizar la analítica de sangre y la exploración.
- 10) Uso del catéter central para la administración de nutrición parenteral.
- 11) Presencia de infección o colonización relacionada con el catéter.

- 12) Presencia de otra infección concomitante aguda (ICA) como neumonía, absceso intraabdominal, etc. o infección concomitante crónica como VHB, VHC, VIH, no relacionadas con el catéter.
- 13) Evolución y seguimiento durante 6 meses a través de la historia clínica electrónica (HCE) de cada paciente.
- 14) Variables analíticas: concentración PON1 (mg/L), actividad Esterasa PON1 (U/L), actividad Lactonasa (U/L), MCP-1 (ng/L), PCR (mg/L), Procalcitonina (mcg/L), AE PON1 (U/mg) = Actividad específica PON1 (actividad PON1 / concentración PON1), AE Lactonasa (U/mg) = Actividad específica Lactonasa (actividad Lactonasa / concentración PON1), polimorfismos *PON1*₁₉₂, *PON1*₅₅.

Protocolo de actuación y procesamiento de las muestras de los pacientes incluidos: El día de la extracción del catéter se realizó a todos los participantes una extracción de sangre. Dado que la retirada del catéter podía ser en cualquier momento de la mañana y la mayoría de los pacientes no se encontraban en ayunas, se desestimó la inclusión de algunos parámetros bioquímicos como glicemia y perfil lipídico. Se midieron los parámetros definidos anteriormente y se creó una colección de muestras en el Biobanc del Institut d'Investigació Sanitària Pere Virgili. El estudio de la orina y el cultivo del catéter se realizó en Microbiología del Laboratori de Referència Sud. Después de realizar el estudio microbiológico, las puntas de los CVC y SU también se guardaron congeladas en las instalaciones Biobanc. Las muestras obtenidas de los pacientes fueron procesadas y almacenadas según la normativa ISO9001:2008 y los datos bioquímicos fueron obtenidos según la normativa ISO9001:2008 en la Unitat de Recerca Biomèdica del Hospital Universitari de Sant Joan. La colección quedó

registrada como BIOPON y consiste para cada paciente en 8 alícuotas de plasma de 500µl, 10 alícuotas de suero de 350µl, y leucocitos para obtener DNA. Todas estas muestras quedan conservadas para futuros estudios de nuestro equipo o de otros investigadores que así lo soliciten.

Microbiología: Los sedimentos de orina, los urocultivos y los cultivos de punta de catéter se analizaron en el Laboratorio de Microbiología del Laboratori de Referència de Catalunya SUD.

Requerimientos éticos

El estudio fue aprobado por el Comité de Ética e Investigación Clínica del Hospital Universitari Sant Joan de Reus. Nr referencia del proyecto CEIC 10-12-23/12proj2, aprobado el 29/12/2010. Los datos fueron codificados para asegurar la confidencialidad y el anonimato de los pacientes.

A todos los pacientes se les entregó un consentimiento informado que firmaron antes de su inclusión en el estudio.

Se tuvieron en cuenta los requisitos eticos y legales recogidos por los Principios basicos de la buena práctica clínica (Real Decreto 561/19934) y la Declaración de Helsinki.

No hay conflicto de intereses por parte de los investigadores de este proyecto.

Determinaciones analíticas

A. Parámetros bioquímicos generales

I. Determinaciones de los niveles circulantes de PON1

Actividad esterasa de PON1

Se determinó midiendo la tasa de hidrólisis del sustrato paraoxón a 410 nm y 37°C, en un tampón glicina 0.05 mM, pH 10.5, complementado con 1 mM de cloruro de calcio (CaCl₂).³³⁹ La actividad se expresó en U/L (1 U equivale a 1 μmol de paraoxón hidrolizado por minuto).

Actividad lactonasa de PON1

La actividad lactonasa se analizó midiendo la hidrólisis del sustrato sintético 5-tiobutil butirolactona (TBBL), sustrato y método cedidos por el Dr. Tawfik, del Weizmann Institute of Science (Rehovot, Israel).^{340,341} Los reactivos utilizados contenían 1 mM de CaCl₂, 0.25 mM de TBBL y 0.5 mM de ácido 5,5-ditio-bis-2-nitrobenzoico (DTNB), en 0.05 mM del tampón Tris- HCl pH 8. Los cambios en la absorbancia se monitorizaron a 412 nm. La actividad enzimática se expresó en U/L (1 U equivale a 1 mmol de TBBL hidrolizado por minuto).

Concentración de PON1

La concentración sérica de PON1 se determinó mediante un ELISA no comercial. El anticuerpo anti-PON1 fue cedido por los Drs. Mackness (Universidad de Manchester, Reino Unido). Se obtuvo inoculando conejos con el péptido sintético derivado de una secuencia específica de la PON1 madura (CRNHQSSYQTRLNALREVQ).^{342,343}

Las Actividades Específicas esterasa y lactonasa fueron calculadas como división entre las correspondientes actividades y la concentración PON1, fueron expresadas en U/mg.

II. Genotipado de PON1

El DNA genómico se obtuvo a partir de leucocitos (Puregene DNA Isolation reagent set, Gentra Systems Inc., Minneapolis, MN, USA), y los polimorfismos seleccionados se analizaron mediante el método Iplex Gold MassArrayTM method (Sequenom Inc., San Diego, CA, USA).

III. Otras variables bioquímicas

La concentración sérica de proteína C-reactiva (PCR) se midió utilizando un método de alta sensibilidad (Horiba ABX, Montpellier, Francia). La concentración sérica de procalcitonina y la concentración de MCP-1 en EDTA-plasma se midieron

por ELISA (BioVendor, Brno, República Checa, y Prepotech, Londres, Reino Unido, respectivamente).

B. Análisis microbiológicos

Los catéteres se cultivaron mediante métodos estándar y fueron clasificados de acuerdo a criterios clínicos y microbiológicos de la siguiente manera: no infectado, cuando no había evidencia de infección y los cultivos fueron negativos [infección relacionada con el catéter (IRC) = 0]; colonización del catéter, cuando un importante crecimiento de un microorganismo (> 15 unidades formadoras de colonias/ml) de la punta del catéter fue positivo pero sin evidencia clínica de infección (IRC = 1); infección del punto de inserción cuando había eritema o induración dentro de 2 cm del sitio de salida del catéter, en ausencia de infección del torrente sanguíneo concomitante (IRC = 2); bacteriemia relacionada con el catéter cuando el cultivo de la punta del catéter y hemocultivos fueron positivos para el mismo microorganismo (IRC = 3). Posteriormente, las pruebas de identificación y susceptibilidad de la cepa aislada se realizaron por microdilución automatizado (MicroScan WalkAway[®], Siemens Healthcare, Erlangen, Alemania) y / o método de difusión en disco y pruebas bioquímicas complementarias, dependiendo del tipo de microorganismo.

El sedimento y cultivo de las muestras de orina se llevó a cabo mediante los procedimientos habituales del Laboratorio de Microbiología.

Catéteres utilizados

Se usaron: CVC de poliuretano alifático (Seldiflex trilumen de adulto de Intersurgical, Mostoles, Madrid, España), Lifecath PICC (PUR) 5Fr 1L (Vygon SAU,

Paterna, Valencia, España) y SU Foley latex (Teleflex Medical SA de Alcalá de Henares, Madrid, España).

Cultivo de orina

Se realizó de acuerdo con las recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica.³⁴⁴

Se sembró 0,001 ml de la orina, previamente homogenizada, en la superficie de una placa con medio de cultivo de CLED y otra con medio de agar sangre (AS) realizando una estría en el centro. Seguidamente, se diseminó el inóculo mediante estrías perpendiculares a ésta. Una vez inoculados los medios de cultivo, se incubaron a 35-37°C en aerobiosis durante 24-48 horas. Tras la incubación de las placas se realizó el recuento de las unidades formadoras de colonias (ufc) y se multiplicó por el factor de dilución 1.000 y obtener de esta manera el número de ufc/ml de orina. En general, se consideró un cultivo positivo cuando el recuento fue ≥ 100.000 ufc/ml de cualquier microorganismo en cultivo puro. Cultivos con recuentos inferiores fueron interpretados como positivos dependiendo del tipo de microorganismo aislado, presencia de piuria en el sedimento y de datos analíticos y clínicos según el criterio del microbiólogo. Posteriormente, se realizó la identificación y el antibiograma del microorganismo/s aislados mediante el sistema automatizado de microdilución de MicroScan WalkAway (Siemens) y/o por el método de difusión en disco y pruebas bioquímicas complementarias, dependiendo del tipo de microorganismo.

Cultivo de punta de catéter vascular

Se realizó de acuerdo con las recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica.³⁴⁵

Se realizó la técnica del cultivo semicuantitativo de Maki. Con la ayuda de unas pinzas estériles se hizo rodar tres o cuatro veces sobre la superficie de una placa de agar sangre, el segmento (3-4 cm) del extremo distal intravascular del catéter. Seguidamente el medio de cultivo fue incubado en aerobiosis durante 24-48 horas. Tras la incubación de la placa se realizó el recuento de las ufc. Se consideró que el catéter estaba colonizado cuando el número de ufc por placa fue ≥ 15 , correspondientes a la misma especie de microorganismo. Posteriormente, se realizó la identificación y el antibiograma del microorganismo/s aislados mediante el sistema automatizado de microdilución de MsCan y/o por el método de difusión en disco y pruebas bioquímicas complementarias, dependiendo del tipo de microorganismo.

Análisis estadísticos

Todos los análisis estadísticos se han realizado con el programa estadístico SPSS versión 22.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, EEUU). El grado de significación mínima se estableció a $P \leq 0,05$ para cada test.

Los resultados se expresaron como porcentajes o mediana (5-95% IC), según las variables sean cualitativas o cuantitativas.

Se han utilizado métodos estándar (Kolmogorov-Smirnov) para comprobar si las variables siguen una distribución normal y el test de Levene para analizar la homogeneidad de varianzas.

Dado que la mayoría de parámetros analizados siguieron distribuciones no paramétricas, las diferencias entre dos grupos se analizaron mediante la prueba de la U de Mann-Whitney. Los datos cualitativos se analizaron con la prueba de χ^2 .

Las diferencias entre 3 o más grupos se analizaron con la prueba de Kruskal-Wallis.

Para evaluar el grado de asociación entre dos variables se utilizaron el coeficiente de correlación Spearman (no paramétrico) o la prueba de Kruskal-Wallis (categórica).

Se crearon modelos de regresión logística múltiple para estimar la capacidad de grupos de variables para predecir la presencia o ausencia de enfermedad.

La exactitud diagnóstica de parámetros bioquímicos se calculó mediante las curvas de rendimiento diagnóstico (Receiver Operating Characteristic, ROC).³⁴⁶

Para calcular la significación estadística de las diferencias entre dos curvas ROC se usó el método descrito por Hanley JA, McNeil BJ.³⁴⁷

La sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo (VPP) y valor predictivo negativo (VPN) se calcularon mediante el uso de métodos estadísticos estándar.³⁴⁸

Resultados



RESULTADOS

De los 300 participantes en el estudio, 171 fueron incluidos en el Grupo de pacientes con SU, 114 en el Grupo de pacientes con CVC, 15 eliminados por resultado microbiológico compatible con flora de contaminación o debido a problemas de circuito.

Figura 7)



CVC = catéteres venosos centrales

SU = sondas urinarias

BARSU = bacteriuria asintomática relacionada con SU

IRC = infección relacionada con CVC

Figura 7. Diagrama de flujo del diseño del estudio

RESULTADOS DEL GRUPO DE PACIENTES PORTADORES DE CATÉTER CENTRAL

Las características clínico epidemiológicas de los participantes en este grupo del estudio están representadas en la tabla 2.

Tabla 2. Características clínico epidemiológicas de los pacientes portadores de CVC

		NO IRC		IRC		P
		n = 91	%	n = 23	%	
Edad (años)		62 (33-83)		66 (27-86)		0,960
Sexo	mujer	46	50,5	11	47,8	0,815
	hombre	45	49,4	12	52,1	
Tabaquismo activo	no	68	74,7	20	86,9	0,212
	si	23	25,2	3	13,0	
Enolismo activo	no	75	82,4	21	91,3	0,296
	si	16	17,5	2	8,7	
Hipertensión arterial	no	42	46,1	13	56,5	0,374
	si	49	53,8	10	43,4	
Diabetes mellitus	no	64	70,3	17	73,9	0,735
	si	27	29,6	6	26,0	
Dislipemia	no	59	64,8	17	73,9	0,409
	si	32	35,1	6	26,0	
Cardiopatía isquémica	no	82	90,1	21	91,3	0,862
	si	9	9,8	2	8,7	
Insuficiencia renal	no	82	90,1	22	95,6	0,401
	si	9	9,8	1	4,3	
Ictus	no	81	89,0	21	91,3	0,749
	si	10	10,9	2	8,7	
EPOC	no	81	89,0	21	91,3	0,749
	si	10	10,9	2	8,7	
Neoplasia	no	29	31,8	10	43,4	0,294
	si	62	68,1	13	56,5	
Neoplasia post estudio	no	73	80,2	19	82,6	0,795
	si	18	19,7	4	17,3	
Tratamiento inmunosupresor	no	44	48,3	21	91,3	<0,001
	si	47	51,6	2	8,7	
Procedimiento quirúrgico	no	69	75,8	7	30,4	<0,001
	si	22	24,1	16	69,5	
Infección concomitante aguda	no	69	75,8	9	39,1	0,001
	si	22	24,1	14	60,8	
Infección concomitante crónica	no	90	98,9	23	100,0	0,614
	si	1	1,1	0	0,0	
Infección concomitante sospecha clínica	no	91	100,0	20	86,9	<0,001
	si	0	0,0	3	13,0	
Antibiótico o antifúngico 24 h antes del estudio	no	58	63,7	5	21,7	<0,001
	si	33	36,2	18	78,2	
Índice Charlson	sin comorbilidad	20	21,9	10	43,4	0,109
	comorbilidad baja	41	45,0	8	34,7	
	comorbilidad alta	30	32,9	5	21,7	
Índice McCabe	e. rápidamente fatal	7	7,6	2	8,7	0,553
	e. tardíamente fatal	26	28,5	4	17,3	
	e. no fatal	58	63,7	17	73,9	
Tipo catéter central	basílica	47	51,6	4	17,3	0,003
	yugular	4	4,4	5	21,7	
	subclavia	37	40,6	14	60,8	
	femoral	3	3,3	0	0,0	
Número días catéter		15 (6-223)		30 (6-367)		0,014
Nutrición parenteral	no	62	68,1	7	30,4	0,001
	si	29	31,8	16	69,5	

Las variables cuantitativas son representadas como mediana (5-95% IC). Las variables cualitativas son representadas como número, % de pacientes. P – mediante la prueba U de Mann-Whitney. CVC = catéter venoso central; IRC = infección relacionada con catéter central; EPOC = enfermedad pulmonar obstructiva crónica; e = enfermedad.

De los 114 participantes en este grupo del estudio, 38 (33,33%) fueron hospitalizados por motivos quirúrgicos, 22 (19,30%) por patología infecciosa y el resto, en porcentajes menores, por otras causas. 23 pacientes (20,18%) presentaron infección relacionada con el catéter central (IRC).

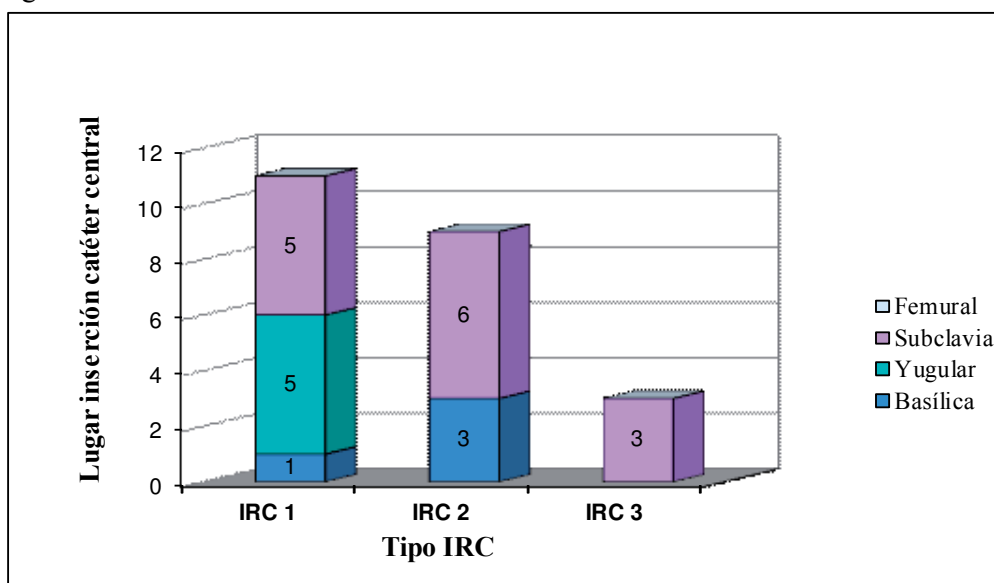
Los pacientes con IRC tuvieron un porcentaje más elevado de procedimientos quirúrgicos la semana previa al estudio, de infección concomitante aguda y de haber recibido tratamiento antimicrobiano durante las 24 horas antes del estudio ($P < 0,001$; $P = 0,001$; $P < 0,001$) comparados con los que no presentaron esta infección. La mayoría de los pacientes tenían un índice de Charlson bajo (ausencia y baja comorbilidad) y Puntuación McCabe y Jackson correspondiente a supervivencia superior a 5 años. (Tabla 2)

Del total de pacientes estudiados, la mayoría, tenían catéteres centrales de inserción periférica (basílica, [PICC]) ($n = 51$, 44,74%) y de inserción central (subclavias) ($n = 51$, 44,74%). De las IRC, 14 (60,87%) fueron relacionadas con catéteres centrales insertados a nivel de subclavia, 5 (21,74%) a nivel yugular, 4 (17,39%) basílica. Los portadores de PICC, tuvieron un número de días de catéter más elevado comparando con el resto de catéteres centrales, con un máximo de 577 días en uno de los pacientes. En 16 (69,56%) de los pacientes con IRC se había usado el catéter para nutrición parenteral comparando con 29 (31,86%) en los sin IRC ($P = 0,001$). (Tabla 2)

La figura 8 muestra que las infecciones localizadas se relacionaron con catéteres insertados a nivel de basílica, yugular, subclavia y las bacteriemias fueron relacionadas con catéteres introducidos a nivel de subclavia. De los 23 pacientes con IRC, 11 (47,83%) presentaron colonización catéter (infección localizada), 9 (39,13%)

infección punto de inserción (infección localizada); 3 (13,04%) bacteriemia relacionada con catéter.

Figura 8. Distribución de los tipos de infección relacionados con catéter central y del lugar de inserción del catéter



IRC = infección relacionada con catéter central; IRC 1 = colonización catéter, (infección localizada); IRC 2 = infección punto de inserción (infección localizada); IRC 3 = bacteriemia relacionada con catéter.

En cuanto a la IRC1 (colonización del catéter), en el cultivo de punta de catéter se aislaron 8 bacterias gram positivas, 2 gram negativas, un cultivo fue positivo por hongos; en la IRC3 (bacteriemia relacionada con catéter), dos relacionaron con bacterias gram positivas, una con hongos.

Comparando con el grupo control, los pacientes portadores de catéteres centrales tenían más edad y más concentración MCP-1, PCR ($P < 0,001$; $P < 0,001$; $P < 0,001$) y valores menores de actividades PON1 Esterasa y Lactonasa y de sus actividades específicas ($P < 0,001$; $P < 0,001$; $P = 0,005$; $P < 0,001$). (Tabla 3)

No observamos diferencias significativas entre en grupo estudiado y el grupo control respecto a las frecuencias de los polimorfismos *PON1*₁₉₂ y *PON1*₅₅. (Tabla 3)

Tabla 3. Características demográficas, niveles PON1 concentración y actividades, MCP-1, PCR, procalcitonina, distribución de polimorfismos *PON1*₁₉₂ y *PON1*₅₅ en grupo control y grupo de pacientes portadores de catéteres centrales

		Control (n = 407)*	Pacientes (n = 114)*	P
Hombres n (%)		175 (43,1)	57 (50)	0,191
Edad (años)		46 (26-74)	63 (33-84)	<0,001
PON1 concentración (mg/L)		96,46 (43,61-290,50)	94,86 (35,52-260,25)	0,576
Esterasa paraoxonasa (U/L)		278,78 (161,31-579,90)	203,05 (124,95-364,65)	<0,001
Lactonasa (U/L)		5,49 (3,20-8,84)	2,89 (1,42-5,41)	<0,001
MCP-1 (ng/L)		138,52 (85,55-258,96)	200,46 (124,13-416,76)	<0,001
PCR (mg/L)		1,34 (0,91-7,14)	19,80 (0,95-212,97)	<0,001
Procalcitonina (mcg/L)		<10	29,0 (10,5-104,1)	-
AE PON1 (U/mg)		2,91 (0,78-9,53)	2,13 (0,57-7,97)	0,005
AE Lactonasa (U/mg)		0,06 (0,02-0,13)	0,03 (0,01-0,15)	<0,001
<i>PON1</i>₁₉₂ n (%)	QQ	199 (49,9)	52 (51)	0,902
	QR	165 (41,4)	40 (39,2)	
	RR	35 (8,8)	10 (9,8)	
<i>PON1</i>₅₅ n (%)	LL	188 (47,1)	47 (46,1)	0,964
	LM	139 (34,8)	37 (36,3)	
	MM	72 (18)	18 (17,6)	

Las variables cuantitativas son representadas como mediana (5-95% IC).

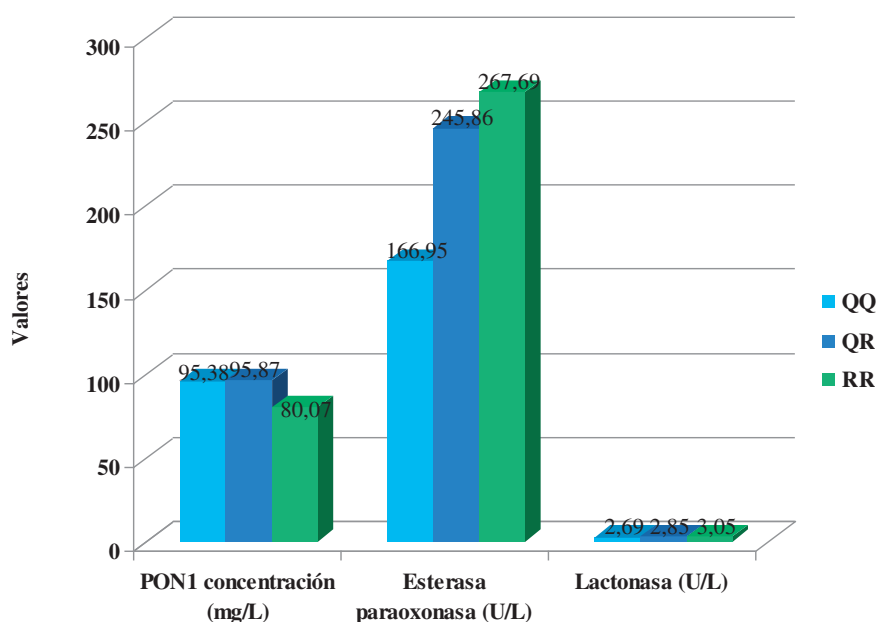
Las variables cualitativas son representadas como número, % de pacientes. P – mediante la prueba U de Mann-Whitney.

PON1 = paraoxonasa 1; MCP-1 = *monocyte chemoattractant protein-1*; AE PON1 = Actividad específica PON1 (actividad esterasa PON1/ concentración PON1); AE Lactonasa = Actividad específica Lactonasa (actividad Lactonasa / concentración PON1); polimorfismo *PON1*₁₉₂ con dos alelos denominados Q y R; polimorfismo *PON1*₅₅ con dos alelos L y M.

*Los polimorfismos de *PON1* se analizaron en los 399 sujetos control y en los 102 pacientes en los que se pudo obtener muestra de ADN.

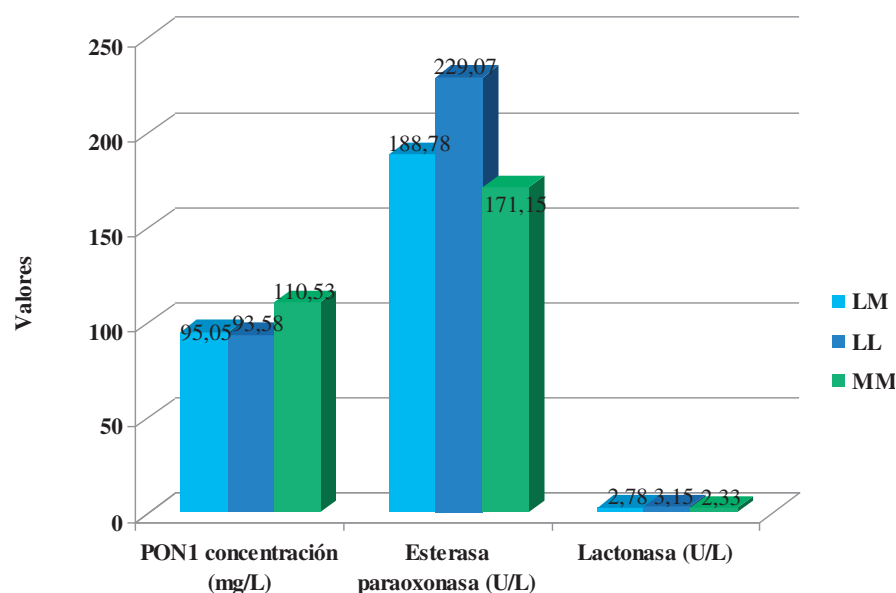
Las Figuras 9 y 10 muestran la distribución de valores concentración de PON1, actividad Esterasa y Lactonasa en relación con los polimorfismos *PON1*₁₉₂ y *PON1*₅₅.

Figura 9. Distribución de valores PON1 concentración y actividades en función del polimorfismo *PON1*₁₉₂ en el grupo de pacientes con CVC



PON1 = paraoxonasa 1; Los polimorfismos de *PON1* se analizaron en los 102 pacientes en los que se pudo obtener muestra de ADN.

Figura 10. Distribución de valores PON1 concentración y actividades en función del polimorfismo *PON1*₅₅ en el grupo de pacientes con CVC



PON1 = paraoxonasa 1; Los polimorfismos de *PON1* se analizaron en los 102 pacientes en los que se pudo obtener muestra de ADN.

Tabla 4. Características demográficas, niveles PON1concentración y actividades, MCP-1, PCR, procalcitonina en grupo control y según tipo de IRC

	Control (n = 407)	Pacientes (n = 114)				P			
		1 (n = 91)	2 (n = 11)	3 (n = 9)	4 (n = 3)	C - 1	C - 2	C - 3	C - 4
Hombres n (%)	175 (43,1)	49,5	63,6	33,3	66,7	0,271	0,176	0,559	0,412
Edad (años)	46 (26-74)	62 (33-83,4)	66 (41-86)	61 (24-76)	72 (49-78)	<0,001	<0,001	0,012	0,049
PON1 concentración (mg/L)	96,46 (43,61-290,5)	94,86 (33,68-223,18)	130,66 (41,94-405,51)	110,53 (39,95-258,88)	196,99 (160,01-340,10)	0,205	0,614	0,870	0,016
Esterasa paraoxonasa (U/L)	278,78 (161,31-579,90)	208,92 (128,33-374,47)	195,49 (124,98-341,56)	180,38 (136,73-272,72)	126,65 (124,98-136,73)	<0,001	0,002	0,001	0,003
Lactonasa (U/L)	5,49 (3,20-8,84)	2,91 (1,59-5,55)	3,32 (1,82-4,78)	2,67 (0,86-3,75)	1,91 (1,16-2,86)	<0,001	<0,001	<0,001	0,003
MCP-1 (ng/L)	138,52 (85,55-258,96)	192,45 (120,01-396,43)	206,10 (146,55-490,35)	223,68 (124,13-478,95)	323,57 (201,09-331,74)	<0,001	<0,001	<0,001	0,007
PCR (mg/L)	1,34 (0,91-7,14)	12,42 (0,90-213,26)	59,76 (7,94-204,20)	62,53 (16,16-148,64)	183,28 (26,71-329,45)	<0,001	<0,001	<0,001	0,003
Procalcitonina (mcg/L)	<10	27,10 (14,10-108,27)	41,56 (7,90-41,56)	29,16 (7,90-188,00)	29,15 (29,15-29,15)	-	-	-	-
AE PON1 (U/mg)	2,91 (0,78-9,53)	2,31 (0,72-10,56)	1,23 (0,54-5,66)	1,63 (0,57-3,76)	0,63 (0,37-0,85)	0,104	0,073	0,083	0,005
AE Lactonasa (U/mg)	0,06 (0,02-0,13)	0,031 (0,009-0,171)	0,021 (0,001-0,079)	0,028 (0,008-0,075)	0,01 (0,006-0,018)	<0,001	0,001	0,002	0,004

Las variables cuantitativas son representadas como mediana (5-95% IC).

Las variables cualitativas son representadas como número, % de pacientes. P – mediante la prueba U de Mann-Whitney, corresponden a la comparación entre el grupo control (C) frente a subgrupos del estudio.

IRC = infección relacionada con catéter central; PON1 = paraoxonasa 1; MCP-1 = *monocyte chemoattractant protein-1*; AE PON1 = Actividad específica PON1 (actividad esterasa PON1 / concentración PON1); AE Lactonasa = Actividad específica Lactonasa (actividad Lactonasa / concentración PON1); 1 = pacientes sin IRC; 2 = colonización catéter, (infección localizada); 3 = infección punto de inserción (infección localizada); 4 = bacteriemia relacionada con catéter.

Comparados con el grupo control, los pacientes con IRC tuvieron la actividad PON1 Esterasa, Lactonasa y sus actividades específicas más bajas y edad, concentración PON1, MCP-1, PCR y procalcitonina más altas. (Tabla 4, Figura 11).

Tabla 5. Niveles PON1 concentración y actividades, MCP-1, PCR, procalcitonina en pacientes sin y con IRC

	NO IRC (n = 91)	IRC (n = 23)	P
PON1 concentración (mg/L)	94,86 (33,68-223,18)	130,66 (40,34-392,42)	0,066
Esterasa paraoxonasa (U/L)	208,92 (128,33-374,47)	180,38 (124,98-332,50)	0,037
Lactonasa (U/L)	2,91 (1,59-5,55)	2,86 (0,90-4,69)	0,758
MCP-1 (ng/L)	192,45 (120,01-396,43)	215,90 (128,62-488,07)	0,017
PCR (mg/L)	12,42 (0,90-213,26)	62,53 (9,33-304,40)	< 0,001
Procalcitonina (mcg/L)	27,09 (14,10-108,26)	29,15 (7,90-165,65)	0,659
AE PON1 (U/mg)	2,31 (0,72-10,56)	1,53 (0,41-5,47)	0,022
AE Lactonasa (U/mg)	0,031 (0,009-0,171)	0,021 (0,02-0,07)	0,014

Las variables cuantitativas son representadas como mediana (5-95% IC).

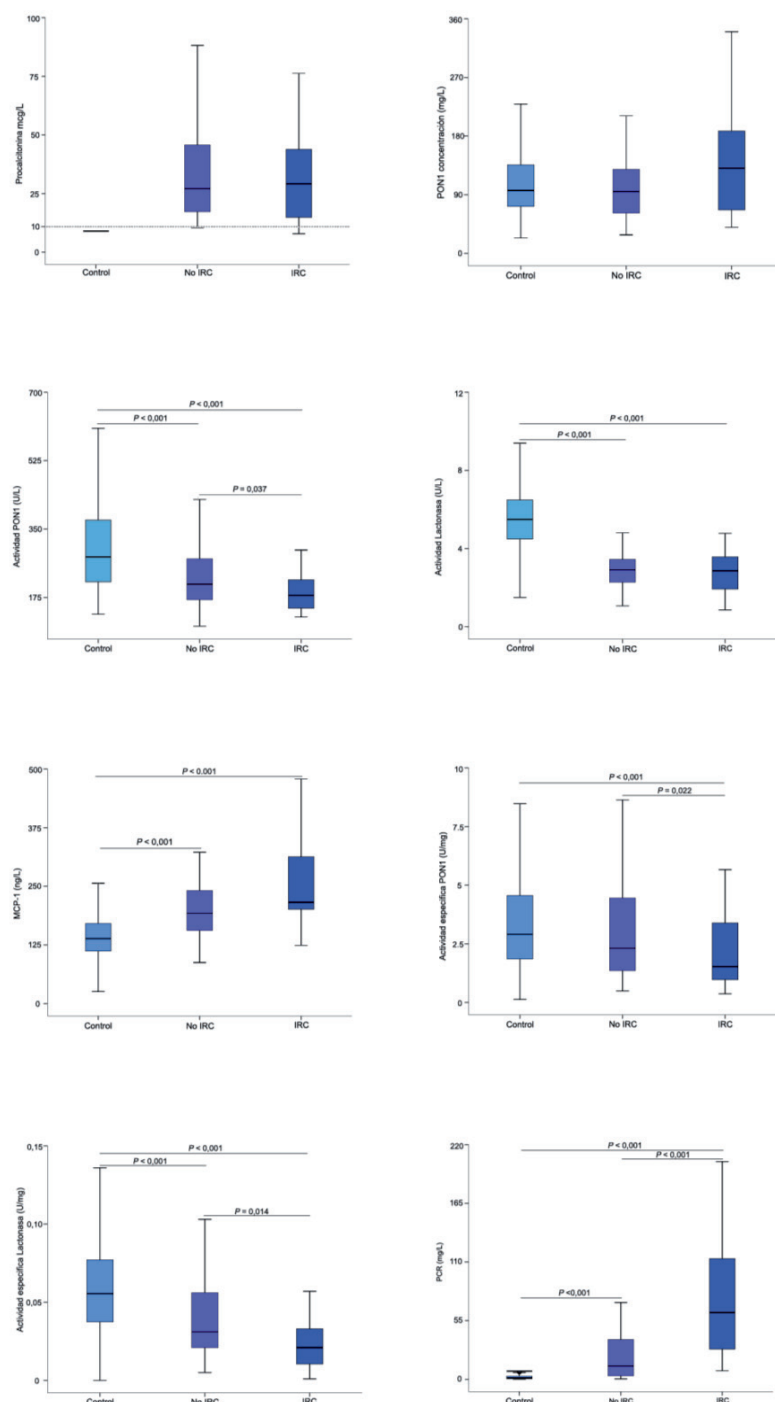
P – mediante la prueba U de Mann-Whitney.

IRC = infección relacionada con catéter central; PON1 = paraoxonasa 1; MCP-1 = *monocyte chemoattractant protein-1*; AE PON1 = Actividad específica PON1 (actividad esterasa PON1 / concentración PON1); AE Lactonasa = Actividad específica Lactonasa (actividad Lactonasa / concentración PON1).

Los pacientes con IRC, presentaron niveles de concentración PON1, MCP-1, PCR más elevados ($P = 0,066$; $P = 0,017$; $P < 0,001$) y valores más bajos de actividad Esterasa PON1, actividad específica PON1 (AE PON1), actividad específica Lactonasa (AE Lactonasa) ($P = 0,037$; $P = 0,022$; $P = 0,014$) comparando con los que no tenían esta infección. (Tabla 5, Figura 11)

Mediante la prueba de Kruskal-Wallis observamos diferencias significativas entre los grupos analizados en la Tabla 6, en los pacientes con IRC la actividad Esterasa PON1 y la AE PON1 y AE Lactonasa siendo menores y valores de PCR más elevados que en los sin IRC ($P = 0,031$; $P = 0,024$; $P = 0,028$; $P = 0,001$).

Figura 11. Resultados de variables bioquímicas estudiadas en el grupo control y en los pacientes portadores de CVC con y sin infección relacionada con catéter venoso central (IRC)



P – mediante la prueba U de Mann-Whitney, corresponden a la comparación entre el grupo control frente a subgrupos del estudio. IRC = infección relacionada con catéter central. PON1 = paraoxonasa 1; PON1 actividad = actividad esterasa PON1; MCP-1 = *monocyte chemoattractant protein-1*; AE PON1 = Actividad específica PON1 (actividad esterasa PON1/ concentración PON1); AE Lactonasa = Actividad específica Lactonasa (actividad Lactonasa / concentración PON1).

Tabla 6. Niveles PON1 concentración y actividades, MCP-1, PCR, procalcitonina en grupo control y según tipo de IRC

	1 (n = 91)	2 (n = 11)	3 (n = 9)	4 (n = 3)	P
PON1 concentración (mg/L)	94,86 (33,68-223,18)	130,66 (41,94-405,51)	110,53 (39,95-258,88)	196,99 (160,01-340,10)	0,068
Esterasa paraoxonasa (U/L)	208,92 (128,33-374,47)	195,49 (124,98-341,56)	180,38 (136,73-272,72)	126,65 (124,98-136,73)	0,031
Lactonasa (U/L)	2,91 (1,59-5,55)	3,32 (1,82-4,78)	2,67 (0,86-3,75)	1,91 (1,16-2,86)	0,216
MCP-1 (ng/L)	192,45 (120,01-396,43)	206,10 (146,55-490,35)	223,68 (124,13-478,95)	323,57 (201,09-331,74)	0,058
PCR (mg/L)	12,42 (0,90-213,26)	59,76 (7,94-204,20)	62,53 (16,16-148,64)	183,28 (26,71-329,45)	0,001
Procalcitonina (mcg/L)	27,09 (14,10-108,26)	41,55 (7,90-76,24)	29,16 (7,90-188,00)	29,16 (29,16-29,16)	0,947
AE PON1 (U/mg)	2,31 (0,72-10,56)	1,23 (0,54-5,66)	1,63 (0,57-3,76)	0,63 (0,37-0,85)	0,024
AE Lactonasa (U/mg)	0,031 (0,009-0,171)	0,021 (0,001-0,079)	0,028 (0,008-0,075)	0,01 (0,006-0,018)	0,028

Las variables cuantitativas son representadas como mediana (5-95% IC). P – mediante la prueba de Kruskal-Wallis.

IRC = infección relacionada con catéter central; PON1 = paraoxonasa 1; MCP-1 = *monocyte chemoattractant protein-1*;

AE PON1 = Actividad específica PON1 (actividad esterasa PON1/ concentración PON1); AE Lactonasa = Actividad específica Lactonasa (actividad Lactonasa / concentración PON1); 1 = pacientes sin IRC; 2 = colonización catéter, (infección localizada); 3 = infección punto de inserción (infección localizada); 4 = bacteriemia relacionada con catéter.

Tabla 7. Niveles PON1 concentración y actividades, MCP-1, PCR, procalcitonina en relación con el sexo, antecedentes de neoplasia, neoplasia postestudio, infección concomitante aguda en el grupo de pacientes portadores de CVC

	Sexo		P	Antecedentes neoplasia		P	Neoplasia postestudio		P	Infección concomitante aguda		P
	Mujeres (n = 57)	Hombres (n = 57)		No (n = 39)	Si (n = 75)		No (n = 92)	Si (n = 22)		No (n = 78)	Si (n = 36)	
PON1 concentración (mg/L)	96,79 (35,92-223,56)	94,85 (33,06-349,91)	0,910	107,19 (41,93-340,10)	94,85 (33,17-240,10)	0,089	95,78 (33,85-275,78)	74,41 (36,44-168,67)	0,020	86,82 (33,18-186,65)	137,05 (44,17-415,15)	<0,001
Esterasa paraoxonasa (U/L)	203,88 (130,85-374,97)	202,20 (124,47-365,40)	0,852	188,77 (126,65-341,56)	210,60 (124,63-391,93)	0,222	198,85 (124,38-362,29)	213,96 (126,73-419,21)	0,356	225,71 (124,89-385,63)	171,14 (121,44-281,20)	<0,001
Lactonasa (U/L)	2,91 (1,46-5,38)	2,89 (1,21-5,71)	0,673	2,67 (1,50-4,78)	2,97 (1,21-5,53)	0,280	2,84 (1,38-4,98)	3,06 (1,27-6,41)	0,308	3,06 (1,73-5,60)	2,42 (1,03-4,23)	0,005
MCP-1 (ng/L)	212,90 (112,46-391,03)	193,27 (126,13-450,24)	0,255	221,34 (126,60-407,21)	192,45 (122,06-430,33)	0,022	203,67 (125,79-409,51)	193,68 (88,71-488,64)	0,167	190,85 (113,14-390,13)	220,56 (145,19-463,32)	0,004
PCR (mg/L)	16,69 (0,89-217,37)	21,68 (1,28-213,25)	0,671	31,76 (1,29-214,43)	16,16 (0,90-216,91)	0,080	21,02 (0,98-224,72)	18,83 (0,64-196,83)	0,796	13,02 (0,90-151,85)	38,47 (1,21-299,92)	0,002
Procalcitonina (mcg/L)	20,67 (11,50-126,01)	29,56 (7,90-93,76)	0,044	33,85 (10,46-124,70)	26,24 (9,97-102,93)	0,095	29,15 (10,47-124,95)	27,49 (8,85-70,24)	0,187	26,24 (11,56-77,09)	33,66 (7,90-148,21)	0,029
AE PON1 (U/mg)	2,07 (0,75-7,28)	2,24 (0,53-13,06)	0,860	1,77 (0,48-5,72)	2,49 (0,60-14,33)	0,038	1,95 (0,56-7,08)	3,60 (1,04-27,69)	0,014	3,16 (1,05-13,30)	1,36 (0,46-3,64)	<0,001
AE Lactonasa (U/mg)	0,02 (0,001-0,11)	0,02 (0,001-0,19)	0,993	0,02 (0,001-0,07)	0,03 (0,001-0,18)	0,063	0,02 (0,001-0,10)	0,05 (0,001-0,33)	0,019	0,03 (0,01-0,18)	0,01 (0,001-0,60)	<0,001

Las variables cuantitativas son representadas como mediana (5-95% IC). P – mediante la prueba U de Mann-Whitney.

PON1 = paraoxonasa I; MCP-1 = *monocyte chemoattractant protein-1*; AE PON1 = Actividad específica PON1 (actividad esterasa PON1 / concentración PON1); AE

Lactonasa = Actividad específica Lactonasa (actividad Lactonasa / concentración PON1).

Tabla 8. Niveles PON1 concentración y actividades, MCP-1, PCR, procalcitonina en relación con antecedentes de procedimiento quirúrgico, tratamiento inmunosupresor, nutrición parenteral en el grupo de pacientes portadores de CV

	Procedimiento quirúrgico		P	Tratamiento inmunosupresor		P	Nutrición parenteral		P
	No (n = 76)	Si (n = 38)		No (n = 65)	Si (n = 49)		No (n = 69)	Si (n = 45)	
PON1 concentración (mg/L)	93,70 (33,96-202,03)	113,48 (41,49-291,86)	0,014	110,53 (43,21-280,37)	67,73 (32,60-227,10)	<0,001	94,85 (33,16-247,37)	105,04 (43,63-280,37)	0,017
Esterasa paraoxonasa (U/L)	206,40 (126,15-389,83)	195,49 (123,79-298,49)	0,167	182,06 (124,97-288,17)	240,82 (132,53-429,70)	<0,001	210,60 (129,17-404,52)	193,81 (123,79-294,71)	0,067
Lactonasa (U/L)	3,01 (1,46-5,60)	2,67 (1,15-4,21)	0,122	2,61 (1,25-4,55)	3,25 (1,43-5,64)	0,003	3,12 (1,69-5,64)	2,44 (1,09-4,55)	0,010
MCP-1 (ng/L)	197,85 (124,64-391,93)	201,70 (113,14-462,05)	0,805	206,10 (124,80-422,09)	187,47 (109,82-419,16)	0,043	195,86 (124,43-416,42)	202,33 (116,92-446,53)	1,000
PCR (mg/L)	10,66 (0,88-187,66)	45,37 (6,60-296,44)	<0,001	39,06 (2,87-260,60)	7,86 (0,74-66,37)	<0,001	10,16 (0,85-197,88)	42,92 (5,00-235,01)	<0,001
Procalcitonina (mcg/L)	27,34 (14,18-124,80)	29,15 (7,90-99,50)	0,743	33,48 (7,90-116,48)	20,67 (14,07-111,23)	0,006	22,90 (11,73-125,06)	33,85 (8,66-97,23)	0,017
AE PON1 (U/mg)	2,53 (0,79-14,33)	1,59 (0,56-4,77)	0,007	1,60 (0,56-4,48)	4,39 (1,05-18,79)	<0,001	3,09 (0,71-16,72)	1,63 (0,56-3,74)	0,004
AE Lactonasa (U/mg)	0,03 (0,001-0,18)	0,02 (0,001-0,08)	0,001	0,02 (0,001-0,06)	0,04 (0,001-0,24)	<0,001	0,03 (0,001-0,19)	0,02 (0,001-0,06)	<0,001

Las variables cuantitativas son representadas como mediana (5-95% IC). P – mediante la prueba U de Mann-Whitney.

PON1 = paraoxonasa 1; MCP-1 = *monocyte chemoattractant protein-1*; AE PON1 = Actividad específica PON1 (actividad esterasa PON1/ concentración PON1); AE Lactonasa = Actividad específica Lactonasa (actividad Lactonasa / concentración PON1).

En la Tabla 7 observamos diferencias estadísticamente significativas comparando los pacientes con y sin antecedentes de neoplasia en cuanto a la concentración MCP-1 ($P = 0,022$) y AE PON1 ($P = 0,038$). Destacan valores más elevados de AE PON1 y de AE Lactonasa ($P = 0,014$; $P = 0,019$) en los sujetos a los que se les diagnosticó neoplasia 6 meses post estudio comparando con el resto. Encontramos significación estadística comparando los participantes que aparte de ser portadores de CVC presentaban una ICA y los que no, entre los que recibían tratamiento inmunosupresor y los que no, en relación con todos los parámetros analizados. (Tabla 7 y 8)

Los participantes con antecedentes de procedimiento quirúrgico la semana previa al estudio y los que habían recibido nutrición parenteral por el catéter estudiado comparando con los sin estos antecedentes, tenían: la concentración PON1 más elevada ($P = 0,014$; $P = 0,017$), los valores de PCR más elevados ($P < 0,001$; $P < 0,001$), actividades específicas PON1 y de Lactonasa más bajas ($P = 0,007$; $P = 0,001$; respectivamente $P = 0,004$; $P < 0,001$). Los pacientes que habían usado nutrición parenteral presentaban también actividad Lactonasa más baja y niveles más elevados de procalcitonina ($P = 0,010$; $P = 0,017$) comparando con los que no. (Tabla 8)

Los participantes con ICA, tuvieron una edad más avanzada y valores más elevados de concentración PON1, MCP-1, PCR ($P < 0,001$; $P < 0,001$; $P < 0,001$) y niveles más bajos de actividad PON1 Esterasa y Lactonasa de sus respectivas actividades específicas ($P < 0,001$; $P < 0,001$; $P < 0,001$; $P < 0,001$) que los miembros del grupo control. Los pacientes que presentaban ICA tenían también más edad y concentración PON1, MCP-1, PCR, procalcitonina y menos actividad PON1 Esterasa, Lactonasa y sus respectivas actividades específicas ($P = 0,038$; $P < 0,001$; $P = 0,004$; $P =$

0,002; $P = 0,029$; $P < 0,001$; $P = 0,005$; $P < 0,001$; $P < 0,001$) comparando con los sin ICA. (Tabla 9, Figura 12)

Tabla 9. Características demográficas, niveles de PON1 concentración y actividades, MCP-1, PCR, procalcitonina en el grupo control y en los pacientes portadores de CVC con/sin infección concomitante aguda no relacionada con catéter

	Control (n = 407)	Infección concomitante aguda		P		
		1 (n=36)	2 (n=78)	C - 1	C - 2	1 - 2
Hombres n (%)	175 (43,1)	14 (38,9)	43 (55,1)	0,474	0,043	0,079
Edad (años)	46 (26-74)	66 (23-84)	60 (34-78)	<0,001	<0,001	0,038
PON1 concentración (mg/L)	96,46 (43,61-290,5)	137,05 (44,17-415,15)	86,82 (33,18-186,65)	<0,001	0,001	<0,001
Esterasa paraoxonasa (U/L)	278,78 (161,31-579,90)	171,14 (121,44-281,20)	225,71 (124,89-385,63)	<0,001	<0,001	<0,001
Lactonasa (U/L)	5,49 (3,20-8,84)	2,42 (1,03-4,23)	3,06 (1,73-5,60)	<0,001	<0,001	0,005
MCP-1 (ng/L)	138,52 (85,55-258,96)	220,56 (145,19-463,32)	190,85 (113,14-390,13)	<0,001	<0,001	0,004
PCR (mg/L)	1,34 (0,91-7,14)	38,47 (1,21-299,92)	13,02 (0,90-151,85)	<0,001	<0,001	0,002
Procalcitonina (mcg/L)	<10	33,66 (7,90-148,21)	26,24 (11,56-77,09)	-	-	0,029
AE PON1 (U/mg)	2,91 (0,78-9,53)	1,36 (0,46-3,64)	3,16 (1,05-13,30)	<0,001	0,25	<0,001
AE Lactonasa (U/mg)	0,06 (0,02-0,13)	0,01 (0,005-0,06)	0,03 (0,01-0,18)	<0,001	0,01	<0,001

Las variables cuantitativas son representadas como mediana (5-95% IC).

Las variables cualitativas son representadas como número, % de pacientes. P – mediante la prueba U de Mann-Whitney, corresponden a la comparación entre el grupo control frente a subgrupos del estudio.

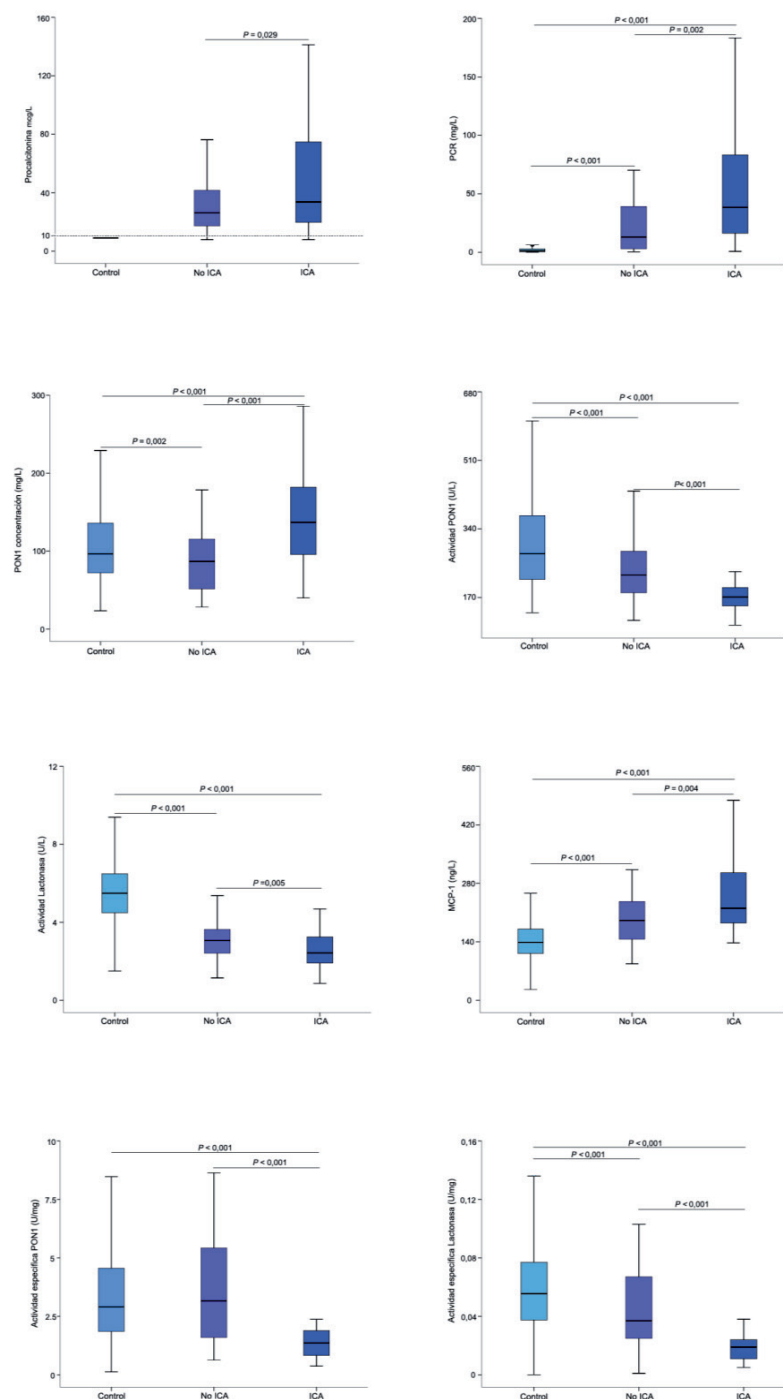
PON1 = paraoxonasa 1; MCP-1 = *monocyte chemoattractant protein-1*; AE PON1 = Actividad específica PON1 (actividad esterasa PON1 / concentración PON1); AE Lactonasa = Actividad específica Lactonasa (actividad Lactonasa / concentración PON1); 1 = pacientes con infección concomitante aguda no relacionada con catéter; 2 = pacientes sin infección concomitante aguda.

Comparando con el grupo control observamos que al tener ambos tipos de infección (IRC e ICA) aumenta la concentración PON1 ($P = 0,006$), el valor siendo más elevado que al tener solo ICA, también significativamente más elevado comparando con grupo control ($P = 0,014$). Los tres subgrupos del estudio (1, 2 y 3) comparando con los controles, tienen niveles más bajos de actividad PON1 Esterasa y Lactonasa, más concentración MCP-1 de forma estadísticamente significativa. Los pacientes solo con ICA comparando con los que presentaban solo IRC presentaban concentración PON1

más baja y actividades específicas PON1 y de Lactonasa más altas ($P = 0,024$; $P = 0,008$; $P = 0,044$). (Tabla 10)

Los enfermos con ambos tipos de infección tenían concentración PON1, AE Lactonasa más elevadas ($P = 0,027$; $P = 0,037$), valores más bajos de actividad Esterasa PON1 y AE PON1 ($P = 0,063$; $P = 0,007$) comparando con los que tenían solo IRC. No se observan diferencias estadísticamente significativas entre los pacientes solo con ICA o solo con IRC. (Tabla 10)

Figura 12. Resultados de variables bioquímicas estudiadas en el grupo control y en los pacientes portadores de CVC con/sin infección concomitante aguda no relacionada con catéter (ICA)



P – mediante la prueba U de Mann-Whitney, corresponden a la comparación entre el grupo control frente a subgrupos del estudio. ICA = infección concomitante aguda no relacionada con catéter. PON1 = paraoxonasa I; PON1 actividad = actividad esterasa PON1; MCP-1 = *monocyte chemoattractant protein-1*; AE PON1 = Actividad específica PON1 (actividad esterasa PON1/ concentración PON1); AE Lactonasa = Actividad específica Lactonasa (actividad Lactonasa / concentración PON1).

Tabla 10. Características demográficas, niveles de PON1 concentración y actividades, MCP-1, PCR, procalcitonina en el grupo control y en los pacientes portadores de catéter central solo con infección concomitante aguda no relacionada con catéter, solo con IRC o con ambos tipos de infecciones a la vez

	Control (n = 407)	1 (n = 22)	2 (n = 9)	3 (n = 14)	P			
					C - 1	C - 2	C - 3	1 - 2 1 - 3 2 - 3
Hombres n (%)	175 (43,1)	8 (36,4)	6 (66,7)	6 (42,90)	0,625	0,394	0,159	0,1300,7010,275
Edad (años)	46 (26-74)	65 (19-84)	66 (41-76)	69 (24-86)	<0,001	<0,001	<0,001	0,5560,6030,283
PON1 concentración (mg/L)	96,46 (43,61-290,5)	128,53 (53,50-434,03)	73,05 (41,93-178,51)	167,21 (39,95-405,50)	0,014	0,185	0,006	0,0240,1730,027
Esterasa paraoxonasa (U/L)	278,78 (161,31-579,90)	173,66 (106,00-289,43)	220,67 (124,97-341,56)	161,91 (124,97-234,10)	<0,001	0,036	<0,001	0,1640,4080,063
Lactonasa (U/L)	5,49 (3,20-8,84)	2,38 (1,13-4,51)	3,01 (1,82-4,78)	2,76 (0,86-4,15)	<0,001	<0,001	<0,001	0,0870,4750,432
MCP-1 (ng/L)	138,52 (85,55-258,96)	220,56 (140,22-455,32)	212,36 (124,13-490,35)	219,79 (146,55-478,95)	<0,001	0,001	<0,001	0,9310,3470,529
PCR (mg/L)	1,34 (0,91-7,14)	27,15 (0,88-290,67)	64,27 (7,94-204,20)	61,14 (18,90-329,45)	<0,001	<0,001	<0,001	0,2580,0920,801
Procalcitonina (mcg/L)	<10	44,96 (15,57-138,82)	29,15 (7,90-76,24)	29,15 (7,90-188,00)	-	-	-	0,0820,1310,924
AE PON1 (U/mg)	2,91 (0,78-9,53)	1,42 (0,49-3,48)	3,29 (1,22-5,66)	1,10 (0,37-3,75)	<0,001	0,871	<0,001	0,0080,1890,007
AE Lactonasa (U/mg)	0,06 (0,02-0,13)	0,002 (0,005-0,03)	0,003 (0,001-0,07)	0,01 (0,006-0,07)	<0,001	0,019	<0,001	0,0440,2810,037

Las variables cuantitativas son representadas como mediana (5-95% IC).

Las variables cualitativas son representadas como número, % de pacientes. *P* – mediante la prueba U de Mann-Whitney, corresponden a la comparación entre el grupo control (C) frente a subgrupos del estudio. IRC = infección relacionada con catéter central; Ambas infecciones = IRC e infección concomitante aguda; PON1 = paraoxonasa 1; MCP-1 = *monocyte chemoattractant protein-1*; AE PON1 = Actividad específica PON1 (actividad esterasa PON1/ concentración PON1); AE Lactonasa = Actividad específica Lactonasa (actividad Lactonasa / concentración PON1); 1 = pacientes solo con infección concomitante aguda no relacionada con catéter; 2 = pacientes solo con IRC; 3 = con ambos tipos de infecciones a la vez.

Tabla 11. Modelos de regresión logística binaria entre los pacientes que tienen infección concomitante aguda y los que no la tienen

	B	Error estándar	Exp (B)	P
Actividad específica PON1				
PCR (mg/L)	0,005	0,004	1,005	0,276
Procalcitonina (mcg/L)	0,894	0,857	2,445	0,307
Edad	0,027	0,019	1,027	0,159
Sexo ^a	-1,314	0,580	3,723	0,024
MCP-1 (ng/L)	0,007	0,003	1,007	0,015
AE PON1 (U/mg)	-1,166	0,316	0,311	<0,001
Constante	-1,632	1,456	0,196	0,262
Actividad específica Lactonasa				
PCR (mg/L)	0,004	0,004	1,004	0,317
Procalcitonina (mcg/L)	1,291	0,887	3,638	0,145
Edad	0,020	0,017	1,020	0,255
Sexo ^a	-1,150	0,544	3,157	0,035
MCP-1 (ng/L)	0,006	0,003	1,006	0,071
AE Lactonasa (U/mg)	-0,065	0,020	0,937	0,001
Constante	-1,508	1,442	0,221	0,296

^a Referencia a sexo masculino

PON1 = paraoxonasa 1; PON1 actividad = actividad esterasa PON1; MCP-1 = *monocyte chemoattractant protein-1*; AE PON1 = Actividad específica PON1 (actividad esterasa PON1/ concentración PON1); AE Lactonasa = Actividad específica Lactonasa (actividad Lactonasa / concentración PON1).

Presentamos dos modelos de regresión logística, con diferentes variables que mostraron asociación significativa en análisis univariante. AE PON1 (coeficiente β -1,166; $P < 0,001$) y AE Lactonasa (coeficiente β -0,065; $P = 0,001$) permanecieron significativamente asociados a infección concomitante aguda en modelos ajustados por sexo, edad, PCR, procalcitonina y MCP-1. Los resultados muestran que AE PON1 y AE Lactonasa son independientemente asociadas con tener ICA. (Tabla 11)

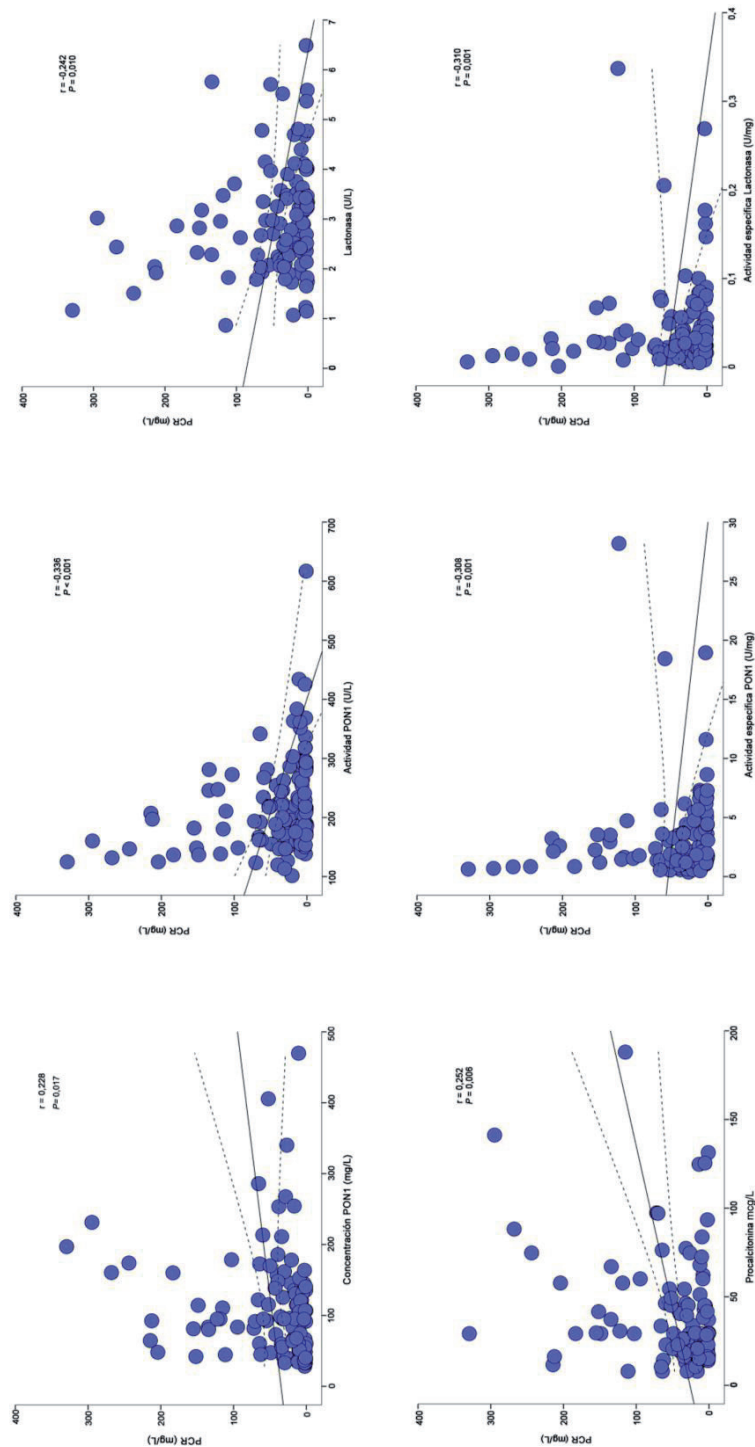
Estudiando el grupo de pacientes portadores de catéter central, se encontraron correlaciones lineales estadísticamente significativas y directamente proporcionales entre los niveles de PCR y de concentración PON1 y procalcitonina ($r = 0,228$, $P = 0,017$; $r = 0,252$, $P = 0,006$) y correlaciones inversas entre niveles PCR y actividad

PON1 Esterasa, Lactonasa, y sus correspondientes actividades específicas ($r = -0,336$, $P < 0,001$; $r = -0,242$, $P = 0,010$; $r = -0,308$, $P = 0,001$; $r = -0,310$, $P = 0,001$). (Figura 13)

Existe asociación lineal inversa, al aumentar los niveles de procalcitonina, baja la actividad Esterasa PON1, la actividad específica de PON1 y de Lactonasa ($r = -0,393$, $P < 0,001$; $r = -0,297$, $P = 0,002$; $r = -0,195$, $P = 0,043$). (Figura 14)

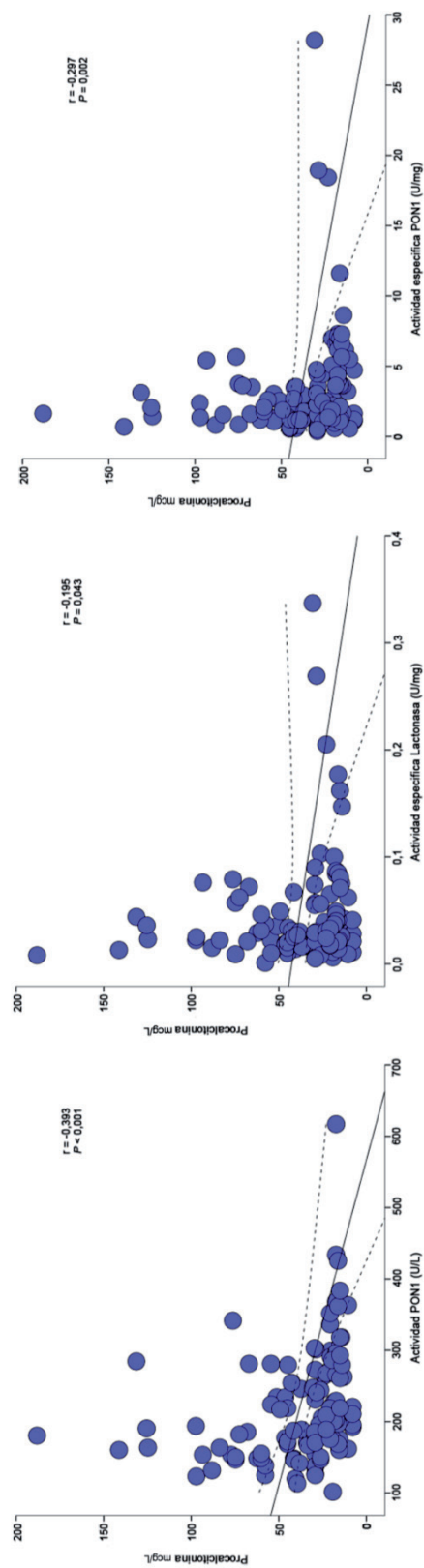
Se observaron correlaciones lineales significativas, directas, al aumentar el número de días de llevar el catéter, aumenta la actividad PON1 Esterasa, Lactonasa y sus respectivas actividades específicas ($r = 0,311$, $P = 0,001$; $r = 0,221$, $P = 0,019$; $r = 0,322$, $P = 0,001$; $r = 0,342$, $P < 0,001$) e indirectas entre el número de días de catéter y valores de concentración PON1, PCR, procalcitonina ($r = -0,232$, $P = 0,015$; $r = -0,473$, $P < 0,001$; $r = -0,300$, $P = 0,001$). (Figura 15)

Figura 13. Correlaciones entre niveles de PCR y de procalcitonina, PON1 concentración y actividades para todo el grupo de pacientes portadores de catéter central.



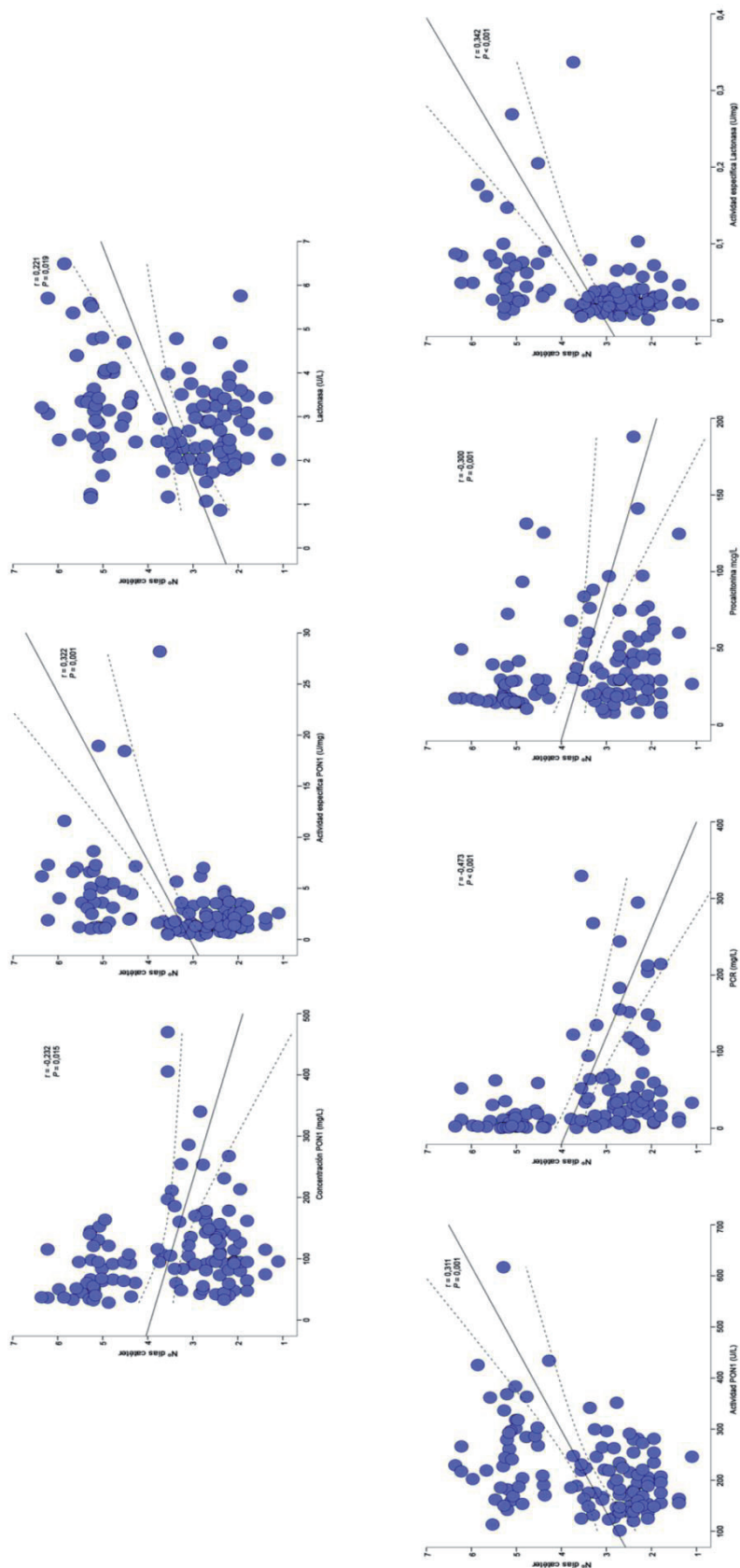
Correlaciones de Spearman; r = coeficiente de correlación Spearman; P = significación estadística; PON1 = paraoxonasa 1; PON1 actividad = actividad esterasa PON1; AE PON1 = Actividad específica PON1 (actividad esterasa PON1 / concentración PON1); AE Lactonasa = Actividad específica Lactonasa (actividad Lactonasa / concentración PON1).

Figura 14. Correlaciones entre niveles de procalcitonina y niveles de PON1 concentración y actividades para todo el grupo de pacientes portadores de catéter central.



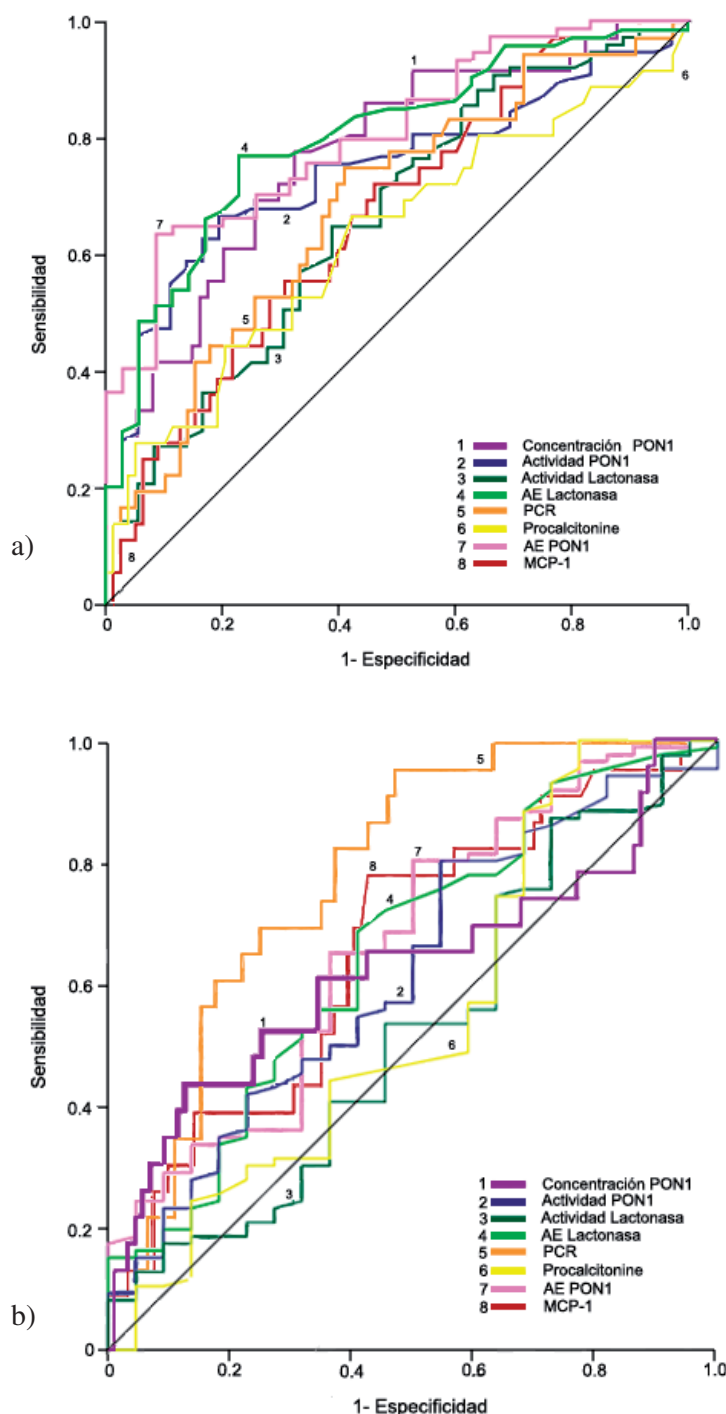
Correlaciones de Spearman; r = coeficiente de correlación estadística; P = significación estadística; PON1 = paraoxonasa 1; PON1 actividad = actividad esterasa PON1; AE PON1 = Actividad específica PON1 (actividad esterasa PON1 / concentración PON1); AE Lactonasa = Actividad específica Lactonasa (actividad Lactonasa / concentración PON1).

Figura 15. Correlaciones entre N° días catéter y niveles de PCR, procalcitonina, PON1 concentración y actividades para todo el grupo de pacientes portadores de catéter central.



Correlaciones de Spearman; r = coeficiente de correlación estadística; P = significación estadística; PON1 = paraoxonasa 1; PON1 actividad = actividad esterasa PON1; AE PON1 = Actividad específica PON1 (actividad esterasa PON1 / concentración PON1); AE Lactonasa = Actividad específica Lactonasa (actividad Lactonasa / concentración PON1).

Figura 16. Curvas de rendimiento diagnóstico (ROC) para los pacientes con: a) infección concomitante aguda (n = 36) y b) con IRC (n = 23) en función de niveles de PON1 concentración y actividades, MCP, PCR, procalcitonina



PON1 = paraoxonasa 1; PON1 actividad = actividad esterasa PON1; MCP-1 = *monocyte chemoattractant protein-1*; AE PON1 = Actividad específica PON1 (actividad esterasa PON1 / concentración PON1); AE Lactonasa = Actividad específica Lactonasa (actividad Lactonasa / concentración PON1).

Tabla 12. Áreas bajo la curva ROC para las variables bioquímicas estudiadas

Parámetros	Exactitud diagnóstica entre los pacientes con y sin IRC			Exactitud diagnóstica entre los pacientes con y sin ICA		
	ABC	Error estándar	IC 95%	ABC	Error estándar	IC 95%
PON1 concentración (mg/L)	0,54	0,100	0,34-0,74	0,77	0,048 ^a	0,67-0,86
Esterasa paraoxonasa (U/L)	0,59	0,087	0,42-0,76	0,75	0,046	0,66-0,84
Lactonasa (U/L)	0,56	0,099	0,37-0,76	0,66	0,055	0,56-0,77
MCP-1 (ng/L)	0,69	0,098	0,59-0,84	0,67	0,053	0,56-0,77
PCR (mg/L)	0,72	0,063	0,59-0,84	0,68	0,054	0,58-0,79
Procalcitonina (mcg/L)	0,46	0,117	0,23-0,69	0,63	0,060	0,51-0,74
AE PON1 (U/mg)	0,56	0,081	0,40-0,72	0,81	0,042 ^{b,c,d}	0,73-0,89
AE Lactonasa (U/mg)	0,58	0,094	0,40-0,77	0,81	0,044 ^{c,d}	0,71-0,89

ABC: área bajo la curva; IRC = infección relacionada con catéter central; ICA = pacientes con infección concomitante aguda no relacionada con catéter; Error estándar – mediante método Hanley & McNeil. ^a $P < 0,05$, con respecto a procalcitonina; ^b $P < 0,05$, con respecto a PCR; ^c $P < 0,05$, con respecto a MCP-1; ^d $P < 0,01$, con respecto a procalcitonina. AE PON1 = Actividad específica PON1 (actividad esterasa PON1 / concentración PON1); AE Lactonasa = Actividad específica Lactonasa (actividad Lactonasa / concentración PON1).

La capacidad discriminatoria de la concentración sérica de los distintos parámetros bioquímicos investigados se analizó mediante curvas ROC, que se compararon entre sí por el método de Hanley & McNeil. El mejor rendimiento diagnóstico para los pacientes con ICA ($n = 36$) lo tuvo la actividad específica PON1 y la actividad específica Lactonasa. Sin embargo, para los participantes con IRC no encontramos resultados significativos. (Figura 16 y Tabla 12)

Comparando las frecuencias de las curvas ROC de los grupos de pacientes con diferencias estadísticamente significativas, proponemos (en función de valores AE PON1 y AE Lactonasa) los siguientes puntos de corte:

AE PON1 1,60 U/mg

	Con ICA	Sin ICA	Total
AE PON1 (U/mg) < 1,6	23	18	41
AE PON1 (U/mg) > 1,6	12	56	68
Total	35	74	109

Sensibilidad: $23/35 = 65,7\%$

Especificidad: $56/74 = 75,7\%$

VPP: $23/41 = 56,1\%$

VPN: $56/68 = 82,3\%$

AE PON1 2,00 U/mg

	Con ICA	Sin ICA	Total
AE PON1 (U/mg) < 2,0	26	25	41
AE PON1 (U/mg) > 2,0	9	49	68
Total	35	74	109

Sensibilidad: $26/35 = 74,2\%$

Especificidad: $49/74 = 66,2\%$

VPP: $26/41 = 63,4\%$

VPN: $49/68 = 72,0\%$

AE Lactonasa 0,021 U/mg

	Con ICA	Sin ICA	Total
AE Lactonasa (U/mg) < 0,021	22	15	37
AE Lactonasa (U/mg) > 0,021	13	59	72
Total	35	74	109

Sensibilidad: $22/35 = 62,8\%$

Especificidad: $59/74 = 79,7\%$

VPP: $22/37 = 59,5\%$

VPN: $59/72 = 81,9\%$

AE Lactonasa 0,024 U/mg

	Con ICA	Sin ICA	Total
AE Lactonasa (U/mg) < 0,024	27	17	44
AE Lactonasa (U/mg) > 0,024	8	57	65
Total	35	74	109

Sensibilidad: $27/35 = 77,1\%$

Especificidad: $57/74 = 77,0\%$

VPP: $27/44 = 61,4\%$

VPN: $57/64 = 87,7\%$

VPP = valor predictivo positivo; VPN = valor predictivo negativo; ICA = infección concomitante aguda no relacionada con catéter. AE PON1 = Actividad específica PON1 (actividad esterasa PON1 / concentración PON1); AE Lactonasa = Actividad específica Lactonasa (actividad Lactonasa / concentración PON1).

RESULTADOS DEL GRUPO DE PACIENTES PORTADORES DE SONDAS URINARIAS

Las características clínico epidemiológicas de los participantes en este grupo del estudio están representadas en la tabla 13.

Tabla 13. Características clínico epidemiológicas de los pacientes portadores de SU

		Sin BARSU		Con BARSU		P
		n = 139	%	n = 32	%	
Edad (años)		72 (43-88)		79 (56-90)		0,003
Sexo	mujer	33	23,7	17	53,1	0,001
	hombre	106	76,3	15	46,9	
Tabaquismo activo	no	118	84,9	29	90,6	0,299
	si	21	15,1	3	9,4	
Enolismo activo	no	109	78,4	27	84,4	0,314
	si	30	21,6	5	15,6	
Hipertensión arterial	no	47	33,8	5	15,6	0,032
	si	92	66,2	27	84,4	
Diabetes mellitus	no	89	64,0	20	62,5	0,512
	si	50	36,0	12	37,5	
Dislipemia	no	83	59,7	18	56,3	0,434
	si	56	40,3	14	43,8	
Cardiopatía isquémica	no	113	81,3	21	65,6	0,048
	si	26	18,7	11	34,4	
Insuficiencia renal	no	117	84,2	18	56,3	0,001
	si	22	15,8	14	43,8	
Ictus	no	128	92,1	30	93,8	0,547
	si	11	7,9	2	6,3	
EPOC	no	111	79,9	27	84,4	0,380
	si	28	20,1	5	15,6	
Neoplasia	no	71	51,1	23	71,9	0,025
	si	68	48,9	9	28,1	
Neoplasia postestudio	no	104	74,8	27	84,4	0,180
	si	35	25,2	5	15,6	
Tratamiento inmunosupresor	no	137	98,1	28	87,5	0,012
	si	2	1,4	4	12,5	
Procedimiento quirúrgico	no	67	48,2	22	68,7	0,036
	si	72	51,8	10	31,3	
Infección concomitante aguda	no	97	69,8	21	65,6	0,397
	si	42	30,2	11	34,4	
Infección concomitante crónica	no	138	99,3	32	100,0	0,813
	si	1	0,7	0	0,0	
Antibióticos o antifúngicos 24h antes del estudio	no	15	10,8	11	34,4	0,001
	si	124	89,2	21	65,6	
Índice Charlson	sin comorbilidad	52	37,4	18	56,3	0,040
	comorbilidad baja	46	33,1	9	28,1	
	comorbilidad alta	41	29,5	5	15,6	
Índice McCabe	e. rápidamente fatal	13	9,4	5	15,6	0,801
	e. tardíamente fatal	13	9,4	0	0,0	
	e. no fatal	113	81,3	27	84,4	
Nº días catéter		3 (1-15)		7 (2-64)		<0,001

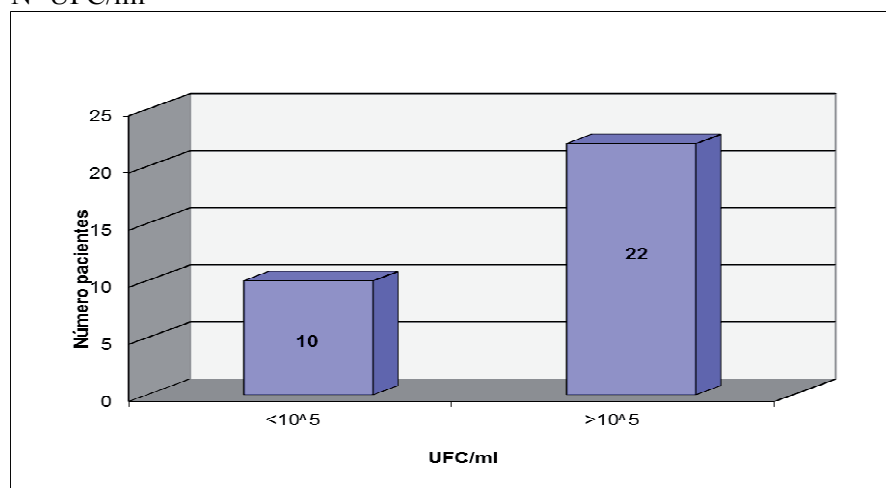
Las variables cuantitativas son representadas como mediana (5-95% IC).

Las variables cualitativas son representadas como número, % de pacientes. P – mediante la prueba U de Mann-Whitney. BARSU = bacteriuria asintomática relacionada con sonda urinaria; EPOC = enfermedad pulmonar obstructiva crónica; e = enfermedad.

De los 171 participantes en este grupo del estudio, 82 (47,95%) fueron hospitalizados por motivos quirúrgicos, 52 (30,40%) por patología infecciosa, y el resto, en porcentajes menores, por diversas causas. 32 pacientes presentaron BARSU (18,71%).

Los pacientes con BARSU tenían edad más avanzada y sexo femenino en un porcentaje más elevado ($P = 0,003$; $P = 0,001$), tenían en una proporción más alta antecedentes de hipertensión arterial, cardiopatía isquémica, insuficiencia renal y neoplasia ($P = 0,032$; $P < 0,048$; $P = 0,001$; $P = 0,025$), habían recibido tratamiento inmunosupresor y tratamiento antimicrobiano durante 24h antes del estudio en más ocasiones ($P = 0,012$; $P = 0,001$), habían más participantes con procedimiento quirúrgico la semana previa al estudio ($P = 0,036$) y llevaron sonda urinaria más días ($P < 0,001$) que los que no presentaban bacteriuria. La mayoría de los pacientes tenían un índice de Charlson bajo (ausencia y baja comorbilidad) e índice McCabe correspondiente a supervivencia superior a 5 años. (Tabla 13) De los 32 pacientes con BARSU, 10 tenían urocultivo positivo con $< 10^5$ UFC/ml y 22 con $> 10^5$ UFC/ml. (Figura 17)

Figura 17. Distribución de pacientes con bacteriuria relacionada con SU en función del N° UFC/ml



UFC/ml = unidades formadoras de colonias/ml

Los gérmenes aislados en los pacientes con BARSU fueron: 9 gram positivos, 13 gram negativos, 10 hongos.

Tabla 14. Características demográficas, niveles PON1 concentración y actividades, MCP-1, PCR, procalcitonina, distribución de polimorfismos *PON1*₁₉₂ y *PON1*₅₅ en grupo control y grupo de pacientes portadores de sondas urinarias

		Control (n = 407)*	Pacientes (n = 171)*	P
Hombres n (%)		175 (43,1)	121 (70,7)	<0,001
Edad (años)		46 (26-74)	74 (45-88)	<0,001
PON1 concentración (mg/L)		96,4 (43,6-290,5)	105,0 (38,4-305,5)	0,378
Esterasa paraoxonasa (U/L)		278,7 (161,3-579,9)	218,9 (132,0-398,6)	<0,001
Lactonasa (U/L)		5,4 (3,2-8,8)	3,1 (1,7-5,3)	<0,001
MCP-1 (ng/L)		138,5 (85,5-258,9)	190,9 (108,7-331,1)	<0,001
PCR (mg/L)		1,3 (0,9-7,1)	24,8 (1,9-148,7)	<0,001
Procalcitonina (mcg/L)		<10	41,5 (1,0-665,0)	-
AE PON1 (U/mg)		2,9 (0,7-9,5)	2,3 (0,6-8,2)	<0,001
AE Lactonasa (U/mg)		0,06 (0,02-0,13)	0,03 (0,01-0,10)	<0,001
<i>PON1</i>₁₉₂ n (%)	QQ	199 (49,9)	86 (50,3)	0,995
	QR	165 (41,4)	70 (40,9)	
	RR	35 (8,8)	15 (8,8)	
<i>PON1</i>₅₅ n (%)	LL	188 (47,1)	93 (54,4)	0,281
	LM	139 (34,8)	51 (29,8)	
	MM	72 (18,0)	27 (15,8)	

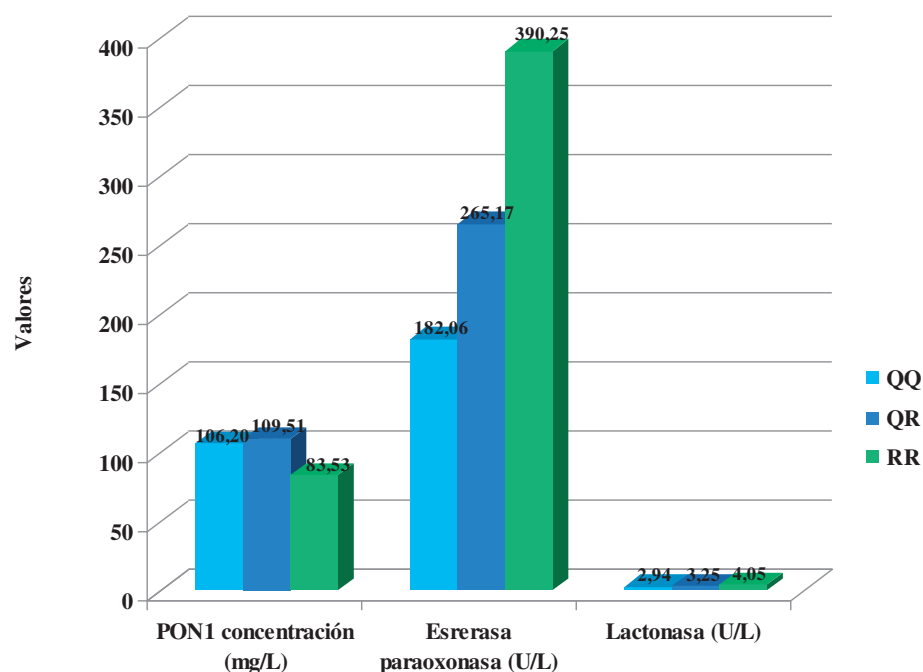
Las variables cuantitativas son representadas como mediana (5-95% IC).

Las variables cualitativas son representadas como número, % de pacientes. *P* – mediante la prueba U de Mann-Whitney.

PON1 = paraoxonasa 1; MCP-1 = *monocyte chemoattractant protein-1*; AE PON1 = Actividad específica PON1 (actividad esterasa PON1/ concentración PON1); AE Lactonasa = Actividad específica Lactonasa (actividad Lactonasa / concentración PON1); polimorfismo *PON1*₁₉₂ con dos alelos denominados Q y R; polimorfismo *PON1*₅₅ con dos alelos L y M.

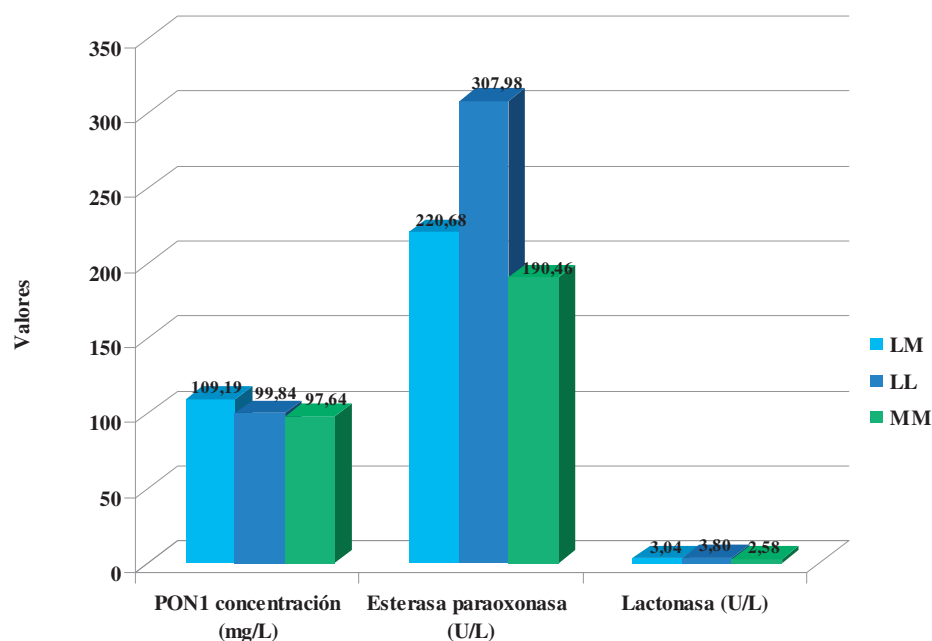
*Los polimorfismos de *PON1* se analizaron en los 399 sujetos control y en los 170 pacientes en los que se pudo obtener muestra de ADN.

Figura 18. Distribución de valores PON1 concentración y actividades en función del polimorfismo *PON1*₁₉₂ en el grupo de pacientes con SU



PON1 = paraoxonasa 1. Los polimorfismos de *PON1* se analizaron en los 170 pacientes en los que se pudo obtener muestra de ADN.

Figura 19. Distribución de valores PON1 concentración y actividades en función del polimorfismo *PON1*₅₅ en el grupo de pacientes con SU



PON1 = paraoxonasa 1. Los polimorfismos de *PON1* se analizaron en los 170 pacientes en los que se pudo obtener muestra de ADN.

Comparados con el grupo control, los pacientes portadores de sondas urinarias tenían edad más avanzada, el sexo masculino en un porcentaje más elevado, más concentración MCP-1, PCR y valores menores de actividades PON1 Esterasa y Lactonasa y de sus actividades específicas, todas las diferencias antes mencionadas siendo estadísticamente significativas, con valores de $P < 0,001$. (Tabla 14)

No observamos diferencias significativas entre en grupo estudiado y el grupo control respecto a las frecuencias de los polimorfismos *PON1*₁₉₂ y *PON1*₅₅. (Tabla 14)

Las Figuras 18 y 19 muestran la distribución de valores PON1 y Lactonasa en relación con los polimorfismos *PON1*₁₉₂, *PON1*₅₅ y sus fenotipos.

Los pacientes con BARSU no presentaron diferencias estadísticamente significativas entre los niveles de las variables bioquímicas estudiadas comparados con los que no tenían esta infección. (Tabla 15).

Tabla 15. Niveles PON1 concentración y actividades, MCP-1, PCR, procalcitonina en grupo sin y con BARSU

	NO BARSU (n = 139)	BARSU (n = 32)	P
PON1 concentración (mg/L)	109,18 (36,99-321,58)	96,48 (34,32-300,42)	0,388
Esterasa paraoxonasa (U/L)	222,36 (130,01-390,25)	215,64 (137,06-421,14)	0,375
Lactonasa (U/L)	3,13 (1,52-5,46)	3,00 (1,75-4,58)	0,216
MCP-1 (ng/L)	190,99 (108,99-333,31)	189,94 (106,38-387,23)	0,666
PCR (mg/L)	23,46 (2,00-147,15)	28,94 (1,51-173,65)	0,343
Procalcitonina (mcg/L)	41,42 (1,00-745,16)	42,04 (5,39-499,83)	0,614
AE PON1 (U/mg)	2,13 (0,53-8,04)	2,39 (0,63-9,94)	0,831
AE Lactonasa (U/mg)	0,031 (0,007-0,10)	0,031 (0,01-0,10)	0,978

Las variables cuantitativas son representadas como mediana (5-95% IC).

P – mediante la prueba U de Mann-Whitney. BARSU = bacteriuria asintomática relacionada con sonda urinaria; PON1 = paraoxonasa 1; MCP-1 = *monocyte chemoattractant protein-1*; AE PON1 = Actividad específica PON1 (actividad esterasa PON1/ concentración PON1); AE Lactonasa = Actividad específica Lactonasa (actividad Lactonasa / concentración PON1).

Tabla 16. Características demográficas, niveles PON1 concentración y actividades, MCP-1, procalcitonina en grupo control y según tipo de BARSU

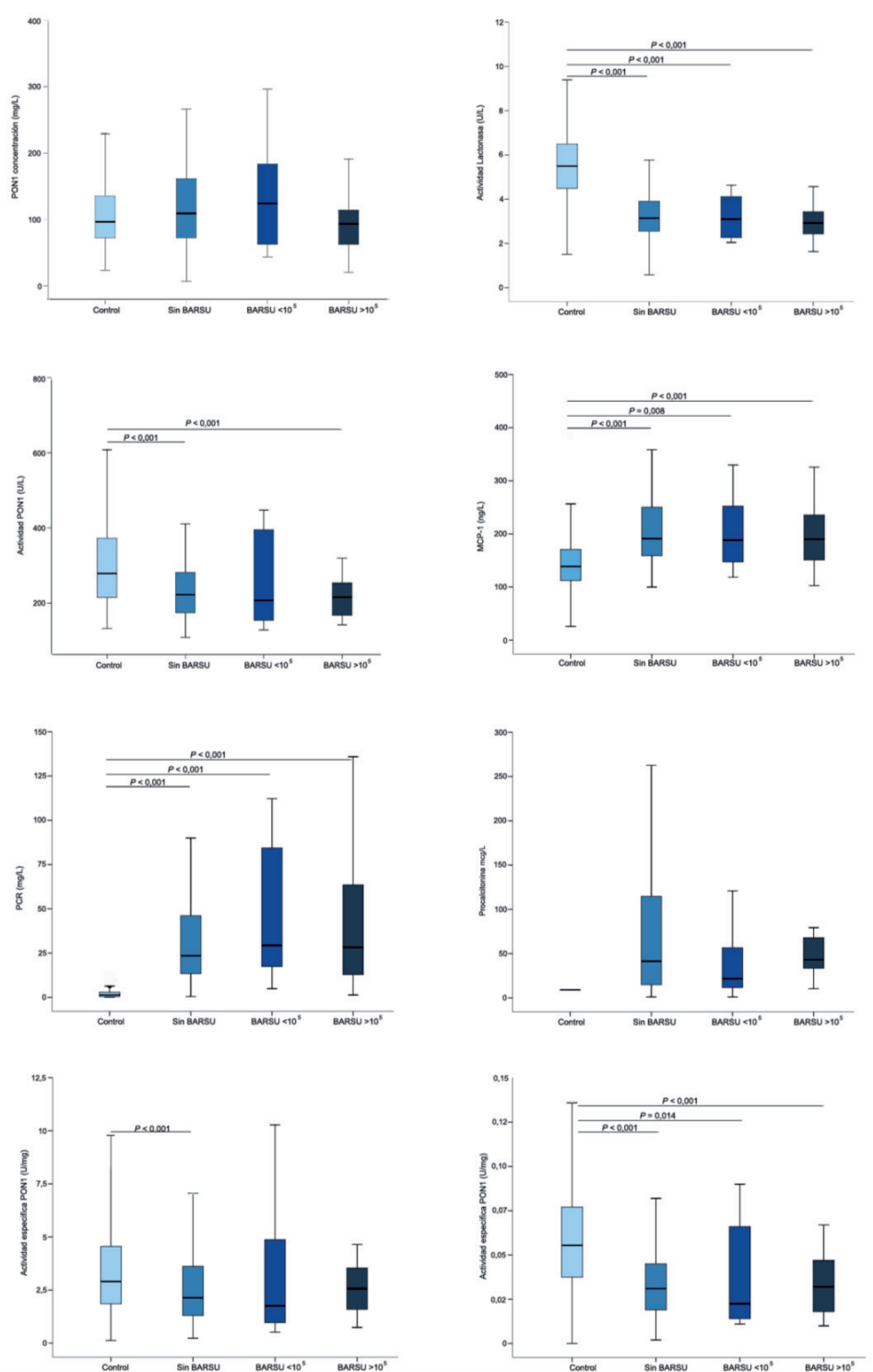
	Control (n =407)	Pacientes (n = 171)			P					
		1 (n = 139)	2 (n = 10)	3 (n = 22)	C - 1	C - 2	C - 3	1-2	1-3	2-3
Hombres n (%)	175 (43,1)	106 (76,3)	7 (70,0)	8 (36,4)	<0,001	<0,001	0,348	0,705	<0,001	0,083
Edad (años)	46 (26-74)	72 (43-88,0)	77 (52-82)	79 (59-90)	<0,001	<0,001	<0,001	0,393	0,002	0,137
PON1 concentración (mg/L)	96,46 (43,61-290,5)	109,18 (36,99-321,58)	124,19 (43,53-296,63)	93,46 (23,46-292,24)	0,254	0,531	0,427	0,775	0,208	0,440
Esterasa paraoxonasa (U/L)	278,78 (161,31-579,90)	222,36 (130,01-390,25)	207,24 (128,33-447,33)	215,64 (142,77-318,72)	<0,001	0,070	<0,001	0,762	0,365	0,968
Lactonasa (U/L)	5,49 (3,20-8,84)	3,13 (1,52-5,46)	3,09 (2,04-4,62)	2,91 (1,66-4,48)	<0,001	<0,001	<0,001	0,918	0,141	0,393
MCP-1 (ng/L)	138,52 (85,55-258,96)	190,99 (108,99-333,31)	188,11 (118,29-329,63)	189,94 (103,44-468,90)	<0,001	0,008	<0,001	0,820	0,697	0,951
PCR (mg/L)	1,34 (0,91-7,14)	23,46 (2,00-147,15)	29,34 (4,90-214,47)	28,15 (1,34-150,81)	<0,001	<0,001	<0,001	0,383	0,540	0,655
Procalcitonina (mcg/L)	<10	41,42 (1,00-745,16)	21,61 (1,00-120,78)	43,13 (11,11-946,50)	-	-	-	0,204	0,844	0,161
AE PON1 (U/mg)	2,91 (0,78-9,53)	2,13 (0,53-8,04)	1,75 (0,51-10,27)	2,56 (0,77-8,99)	<0,001	0,264	0,169	0,714	0,615	0,597
AE Lactonasa (U/mg)	0,06 (0,02-0,13)	0,031 (0,007-0,10)	0,022 (0,01-0,09)	0,032 (0,01-0,13)	<0,001	0,014	<0,001	0,598	0,759	0,669

Las variables cuantitativas son representadas como mediana (5-95% IC).

Las variables cualitativas son representadas como número, % de pacientes. P – mediante la prueba U de Mann-Whitney, corresponden a la comparación entre el grupo control (C) frente a subgrupos del estudio.

BARSU = bacteriuria asintomática relacionada con sonda urinaria; PON1 = paraoxonasa 1; MCP-1 = *monocytechemoattractant protein-1*; AE PON1 = Actividad específica PON1 (actividad esterasa PON1/ concentración PON1); AE Lactonasa = Actividad específica Lactonasa (actividad Lactonasa / concentración PON1); 1 = pacientes sin BA; 2 = bacteriuria asintomática <10⁵ UFC/ml; 3 = bacteriuria asintomática >10⁵ UFC/ml.

Figura 20. Resultados de variables bioquímicas estudiadas en el grupo control y en los pacientes portadores de SU con BARSU en función del número de UFC/ml



P – mediante la prueba U de Mann-Whitney.

BARSU = bacteriuria asintomática relacionada con sonda urinaria; 10⁵ = UFC/ml urocultivo; PON1 = paraoxonasa 1; PON1 actividad = actividad esterasa PON1; MCP-1 = *monocyte chemoattractant protein-1*; AE PON1 = Actividad específica PON1 (actividad esterasa PON1/ concentración PON1); AE Lactonasa = Actividad específica Lactonasa (actividad Lactonasa / concentración PON1).

Tabla 17. Niveles PON1 concentración y actividades, MCP-1, PCR, procalcitonina en relación con el sexo, antecedentes de neoplasia, neoplasia postestudio en el grupo de pacientes portadores de sonda urinaria

	Sexo		P	Antecedentes neoplasia		P	Neoplasia postestudio		P
	Mujeres (n = 50)	Hombres (n = 121)		No (n = 94)	Si (n = 77)		No (n = 123)	Si (n = 48)	
PON1 concentración (mg/L)	114,45 (47,15-313,39)	99,90 (22,90-266,16)	0,090	114,14 (40,44-325,38)	95,42 (21,64-259,54)	0,067	109,70 (39,51-306,93)	85,77 (29,16-307,07)	0,199
Esterasa paraoxonasa (U/L)	213,96 (137,98-427,77)	224,03 (130,01-394,78)	0,563	214,80 (130,01-375,98)	225,71 (132,53-411,07)	0,111	212,28 (132,36-400,99)	239,98 (128,75-401,75)	0,010
Lactonasa (U/L)	3,18 (1,57-5,51)	3,09 (1,78-5,30)	0,877	3,03 (1,34-5,28)	3,16 (1,81-5,36)	0,330	3,01 (1,50-4,89)	3,34 (1,81-5,41)	0,091
MCP-1 (ng/L)	196,87 (104,10-329,06)	188,19 (109,63-438,83)	0,794	182,26 (104,55-321,68)	206,65 (132,89-548,10)	0,014	188,94 (107,80-329,42)	195,28 (114,60-527,38)	0,457
PCR (mg/L)	23,03 (1,20-151,15)	26,08 (3,25-149,38)	0,392	27,58 (1,54-142,99)	22,04 (2,43-157,93)	0,649	26,42 (1,90-145,13)	20,65 (1,85-176,88)	0,567
Procalcitonina (mcg/L)	37,01 (1,00-1221,48)	45,12 (1,00-595,13)	0,075	43,13 (1,00-791,09)	38,10 (1,00-645,88)	0,429	42,53 (1,00-718,46)	38,65 (1,00-958,40)	0,933
AE PON1 (U/mg)	2,13 (0,50-4,42)	2,31 (0,63-10,18)	0,137	2,04 (0,50-6,44)	2,63 (0,65-10,49)	0,046	2,01 (0,52-9,34)	2,88 (0,62-8,23)	0,052
AE Lactonasa (U/mg)	0,02 (0,007-0,07)	0,03 (0,008-0,11)	0,091	0,02 (0,006-0,09)	0,03 (0,01-0,15)	0,060	0,03 (0,007-0,09)	0,03 (0,01-0,13)	0,112

Las variables cuantitativas son representadas como mediana (5-95% IC). P – mediante la prueba U de Mann-Whitney.
PON1 = paraoxonasa 1; MCP-1 = *monocyte chemoattractant protein-1*; AE PON1 = Actividad específica PON1 (actividad esterasa PON1 / concentración PON1); AE Lactonasa = Actividad específica Lactonasa (actividad Lactonasa / concentración PON1).

Tabla 18. Niveles PON1 concentración y actividades, MCP-1, PCR, procalcitonina en relación con antecedentes de procedimiento quirúrgico, tratamiento inmunosupresor, infección concomitante aguda en el grupo de pacientes portadores de sonda urinaria

	Procedimiento quirúrgico		P	Tratamiento inmunosupresor		P	Infección concomitante aguda		P
	No (n = 89)	Si (n = 82)		No (n = 165)	Si (n = 6)		No (n = 118)	Si (n = 53)	
PON1 concentración (mg/L)	118,26 (40,29-330,14)	92,06 (23,68-249,39)	0,013	103,60 (38,05-302,10)	181,41 (97,71-307,46)	0,039	97,92 (36,21-250,91)	122,08 (33,55-352,03)	0,087
Esterasa paraoxonasa (U/L)	213,96 (130,01-408,72)	224,03 (134,62-394,53)	0,275	220,67 (135,88-401,16)	165,27 (130,01-296,23)	0,046	224,03 (129,92-395,70)	207,24 (138,23-419,63)	0,209
Lactonasa (U/L)	2,94 (1,34-5,32)	3,38 (1,85-5,35)	0,028	3,11 (1,64-5,28)	3,10 (1,88-5,46)	0,910	3,13 (1,81-5,36)	2,94 (1,34-5,10)	0,126
MCP-1 (ng/L)	183,42 (104,40-327,09)	194,69 (118,13-436,73)	0,148	190,99 (108,60-329,32)	189,94 (130,50-494,19)	0,788	195,28 (115,39-334,56)	183,42 (104,52-391,25)	0,291
PCR (mg/L)	24,79 (1,32-138,95)	25,03 (6,11-155,38)	0,294	24,79 (2,14-149,78)	18,19 (1,35-145,91)	0,529	20,65 (1,98-147,37)	40,29 (1,70-158,49)	0,004
Procalcitonina (mcg/L)	54,31 (1,30-1004,70)	34,69 (1,00-593,89)	0,025	41,55 (1,00-607,43)	36,41 (16,55-1080,49)	0,687	35,41 (1,00-598,29)	56,59 (1,00-1048,97)	0,036
AE PON1 (U/mg)	2,00 (0,50-7,96)	2,58 (0,66-8,37)	0,023	2,31 (0,56-8,31)	1,00 (0,74-1,64)	0,004	2,41 (0,65-8,60)	1,86 (0,47-7,24)	0,075
AE Lactonasa (U/mg)	0,02 (0,006-0,81)	0,03 (0,01-1,13)	0,003	0,03 (0,008-0,10)	0,01 (0,01-0,03)	0,043	0,03 (0,009-0,12)	0,02 (0,006-0,07)	0,072

Las variables cuantitativas son representadas como mediana (5-95% IC). *P* – mediante la prueba U de Mann-Whitney.
PON1 = paraoxonasa I; MCP-1 = *monocytechemoattract protein-1*; AE PON1 = Actividad específica PON1 (actividad esterasa PON1/ concentración PON1); AE Lactonasa = Actividad específica Lactonasa (actividad Lactonasa / concentración PON1).

Comparados con el grupo control, los pacientes con BARSU tenían actividad PON1 Esterasa, Lactonasa y sus actividades específicas más bajas y edad, MCP-1, PCR y procalcitonina más altas. (Tabla 16 y Figura 20)

En la tabla 17, se observa como los participantes con y sin antecedentes de neoplasia tenían niveles más elevados de MCP-1 y de AE PON1 ($P = 0,014$; $P = 0,046$) en el primer subgrupo y comparando los pacientes con y sin nuevo diagnóstico de neoplasia en los 6 meses postestudio encontramos valores más altos de actividad Esterasa y actividad específica PON1 ($P = 0,010$; $P = 0,052$) en el primer subgrupo.

Los pacientes a los que se les había realizado un procedimiento quirúrgico la semana previa al estudio, presentaban valores más bajos de concentración PON1, procalcitonina y más elevados de actividad Lactonasa y actividades específicas de PON1 y de Lactonasa ($P = 0,013$; $P = 0,025$, $P = 0,028$; $P = 0,02$; $P = 0,003$) que los sujetos que no tenían este antecedente. Así mismo, los enfermos que habían recibido tratamiento inmunosupresor tenían la concentración PON1 más elevada, la actividad Esterasa PON1, las actividades específicas de PON1 y de Lactonasa más bajas ($P = 0,039$; $P = 0,046$; $P = 0,004$; $P = 0,043$), y los que presentaban una infección concomitante aguda no relacionada con la SU tenían niveles de PCR, procalcitonina más elevados ($P = 0,004$; $P = 0,036$). (Tabla 18)

En la tabla 19 y la figura 21 destacamos que los pacientes con ICA tenían valores de concentración PON1 más elevados que el grupo control y que el resto de pacientes portadores de SU ($P = 0,050$; $P = 0,087$) y niveles más bajos de AE PON1 y AE Lactonasa respecto a los grupos antes mencionados ($P < 0,001$; $P = 0,075$, respetivamente $P < 0,001$; $P = 0,072$). Dentro del grupo de pacientes portadores de

sonda vesical, los que presentaban una ICA presentaban una tendencia no significativa a tener valores más elevados de AE PON1 y de AE Lactonasa ($P = 0,075$; $P = 0,072$).

Tabla 19. Características demográficas, niveles de PON1 concentración y actividades, MCP-1, PCR, procalcitonina en el grupo control y en los pacientes portadores de sonda urinaria con/sin infección concomitante aguda no relacionada con catéter

	Control (n = 407)	Infección concomitante aguda		P		
		1 (n=53)	2 (n=118)	C - 1	C- 2	1 - 2
Hombres n (%)	175 (43,1)	27 (50,9)	94 (79,7)	0,175	<0,001	<0,001
Edad (años)	46 (26-74)	76 (39-90)	73 (51-87)	<0,001	<0,001	0,266
PON1 concentración (mg/L)	96,46 (43,61-290,50)	122,08 (33,55-352,03)	97,92 (36,21-250,91)	0,050	0,906	0,087
Esterasa paraoxonasa (U/L)	278,78 (161,31-579,90)	207,24 (138,23-419,63)	224,03 (129,92-395,70)	<0,001	<0,001	0,209
Lactonasa (U/L)	5,49 (3,20-8,84)	2,94 (1,34-5,10)	3,13 (1,81-5,36)	<0,001	<0,001	0,126
MCP-1 (ng/L)	138,52 (85,55-258,96)	183,42 (104,52-391,25)	195,28 (115,39-334,56)	<0,001	<0,001	0,291
PCR (mg/L)	1,34 (0,91-7,14)	40,29 (1,70-158,49)	20,65 (1,98-147,37)	<0,001	<0,001	0,004
Procalcitonina (mcg/L)	<10	56,59 (1,00-1048,97)	35,41 (1,00-598,29)	-	-	0,036
AE PON1 (U/mg)	2,91 (0,78-9,53)	1,86 (0,47-7,24)	2,41 (0,65-8,60)	<0,001	0,012	0,075
AE Lactonasa (U/mg)	0,06 (0,02-0,13)	0,02 (0,006-0,07)	0,03 (0,009-0,12)	<0,001	<0,001	0,072

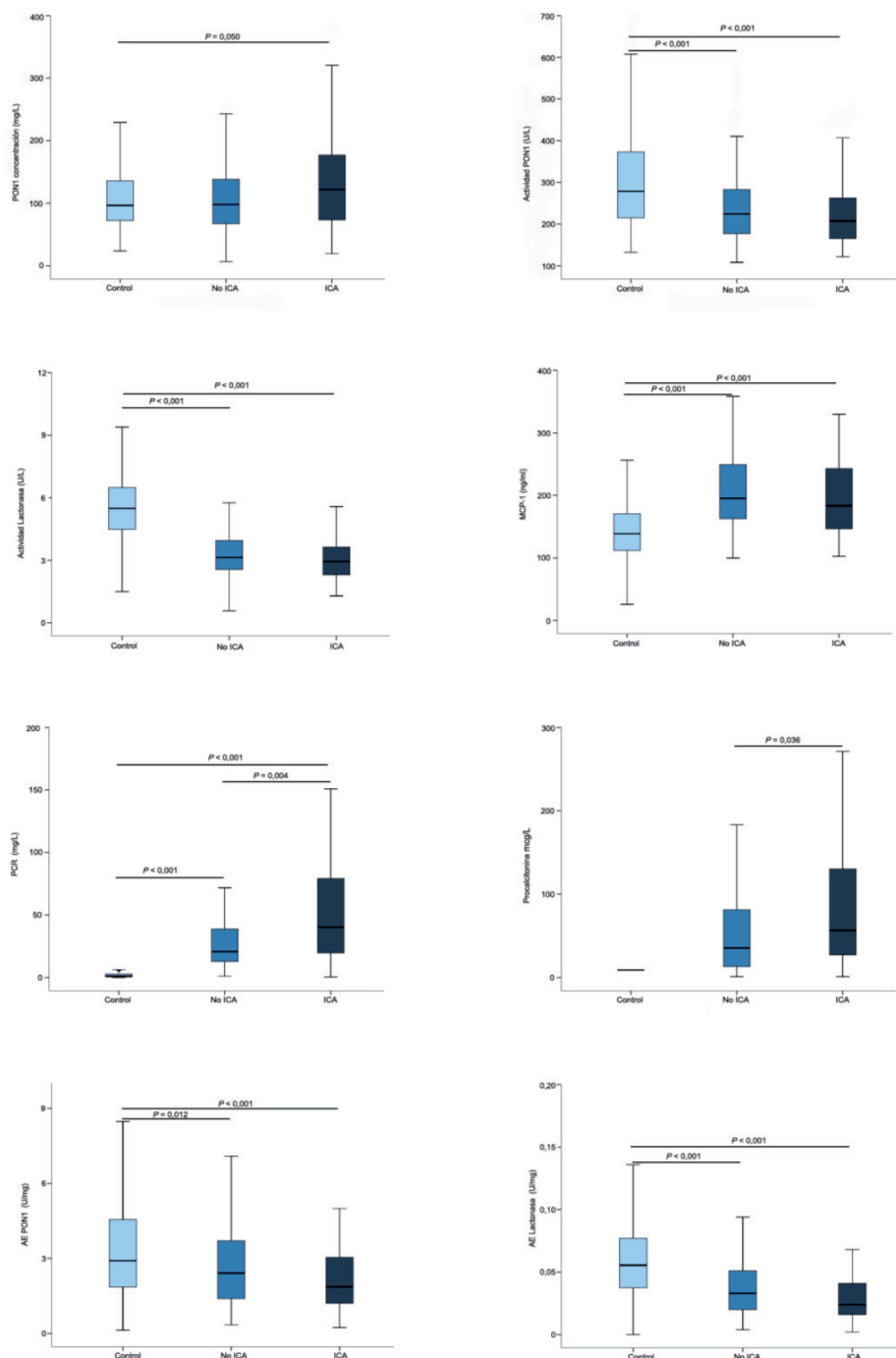
Las variables cuantitativas son representadas como mediana (5-95% IC).

Las variables cualitativas son representadas como número, % de pacientes. *P* – mediante la prueba U de Mann-Whitney, corresponden a la comparación entre el grupo control (C) frente a subgrupos del estudio.

PON1 = paraoxonasa 1; MCP-1 = *monocyte chemoattractant protein-1*; AE PON1 = Actividad específica PON1 (actividad esterasa PON1/ concentración PON1); AE Lactonasa = Actividad específica Lactonasa (actividad Lactonasa / concentración PON1); 1 = pacientes con infección concomitante aguda; 2 = pacientes sin infección concomitante aguda.

En la tabla 20 encontramos diferencias estadísticamente significativas entre el grupo control y los subgrupos estudiados pero sin resaltar diferencias entre subgrupos en cuanto a los valores bioquímicos estudiados.

Figura 21. Resultados de variables bioquímicas estudiadas en el grupo control y en los pacientes portadores de SU con ICA



P – mediante la prueba U de Mann-Whitney.

BARSU = bacteriuria asintomática relacionada con sonda urinaria; 10^5 = UFC/ml urocultivo; PON1 = paraoxonasa 1; PON1 actividad = actividad esterasa PON1; MCP-1 = *monocyte chemoattractant protein-1*; AE PON1 = Actividad específica PON1 (actividad esterasa PON1/ concentración PON1); AE Lactonasa = Actividad específica Lactonasa (actividad Lactonasa / concentración PON1).

Tabla 20. Características demográficas, niveles de PON1 concentración y actividades, MCP-1, PCR, procalcitonina en el grupo control y en los pacientes portadores de sondas urinarias sin ningún tipo de infección, solo con infección concomitante aguda no relacionada con catéter, solo con BARSU o con ambos tipos de infecciones a la vez

	Control (n = 407)	1 (n = 97)	2 (n = 21)	3 (n = 42)	4 (n = 11)	P									
						C - 1	C - 2	C - 3	C - 4	1 - 2	1 - 3	1 - 4	2 - 3	2 - 4	3 - 4
Hombres n (%)	175 (43,1)	83 (85,6)	11 (52,4)	23 (54,8)	4 (36,4)	<0,001	0,269	0,100	0,452	0,002	<0,001	0,001	0,535	0,314	0,228
Edad (años)	46 (26-74)	71 (49-87)	79 (53-90)	75 (37-91)	80 (63-90)	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	0,033	0,579	0,004	0,207	0,462	0,081
PON1 concentración (mg/L)	96,46 (43,61-290,50)	102,58 (21,64-259,54)	90,12 (42,09-204,48)	124,17 (39,58-374,73)	114,41 (20,20-307,46)	0,770	0,323	0,070	0,402	0,279	0,167	0,531	0,091	0,197	0,844
Esterasa paraoxonasa (U/L)	278,78 (161,31-579,90)	225,71 (129,50-391,59)	215,64 (129,67-442,13)	210,60 (131,77-439,19)	197,17 (153,51-407,04)	<0,001	0,002	<0,001	0,007	0,420	0,217	0,295	0,988	0,905	0,869
Lactonasa (U/L)	5,49 (3,20-8,84)	3,19 (1,84-5,48)	2,99 (1,65-4,53)	2,93 (1,33-5,47)	3,01 (2,02-4,62)	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	0,113	0,091	0,317	0,983	0,766	0,784
MCP-1 (ng/L)	138,52 (85,55-258,96)	192,85 (115,31-335,82)	213,35 (110,91-477,33)	188,88 (105,02-504,07)	155,80 (102,55-329,63)	<0,001	<0,001	<0,001	0,057	0,952	0,551	0,219	0,595	0,258	0,469
PCR (mg/L)	1,34 (0,91-7,14)	20,68 (1,93-135,62)	20,55 (1,73-208,19)	38,83 (2,36-172,39)	63,20 (1,30-135,89)	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	0,800	0,019	0,014	0,301	0,137	0,469
Procalcitonina (mcg/L)	<10	34,65 (1,00-599,00)	42,53 (1,67-980,37)	66,98 (1,00-1269,11)	38,16 (16,55-187,17)	-	-	-	-	0,891	0,039	0,658	0,061	0,874	0,174
AE PON1 (U/mg)	2,91 (0,78-9,53)	2,38 (0,63-8,91)	2,71 (0,70-9,88)	1,90 (0,45-5,98)	1,59 (0,51-9,76)	0,015	0,373	0,001	0,074	0,680	0,145	0,343	0,145	0,372	0,792
AE Lactonasa (U/mg)	0,06 (0,02-0,13)	0,03 (0,007-0,15)	0,03 (0,01-0,08)	0,02 (0,005-0,06)	0,02 (0,01-0,146)	<0,001	0,001	<0,001	0,002	0,895	0,140	0,293	0,204	0,284	0,826

Las variables cuantitativas son representadas como mediana (5-95% IC).

Las variables cualitativas son representadas como número, % de pacientes. P – mediante la prueba U de Mann-Whitney, corresponden a la comparación entre el grupo control (C) frente a subgrupos del estudio. BARSU = bacteriuria asintomática relacionada con sonda urinaria; Ambas infecciones = BARSU e infección concomitante aguda; PON1 = paraoxonasa 1; MCP-1 = *monocyte chemoattractant protein-1*; AE PON1 = Actividad específica PON1 (actividad esterasa PON1/ concentración PON1); AE Lactonasa = Actividad específica Lactonasa (actividad Lactonasa / concentración PON1); 1 = pacientes sin ningún tipo de infección; 2 = pacientes solo con BARSU; 3 = pacientes solo con infección concomitante aguda no relacionada con catéter; 4 = con ambos tipos de infecciones a la vez.

Realizamos varios modelos de regresión logística binaria para el grupo de pacientes portadores de SU sin encontrar relación significativa entre las distintas variables investigadas.

Tabla 21. Correlaciones entre marcadores bioquímicos estudiados en pacientes portadores de SU.

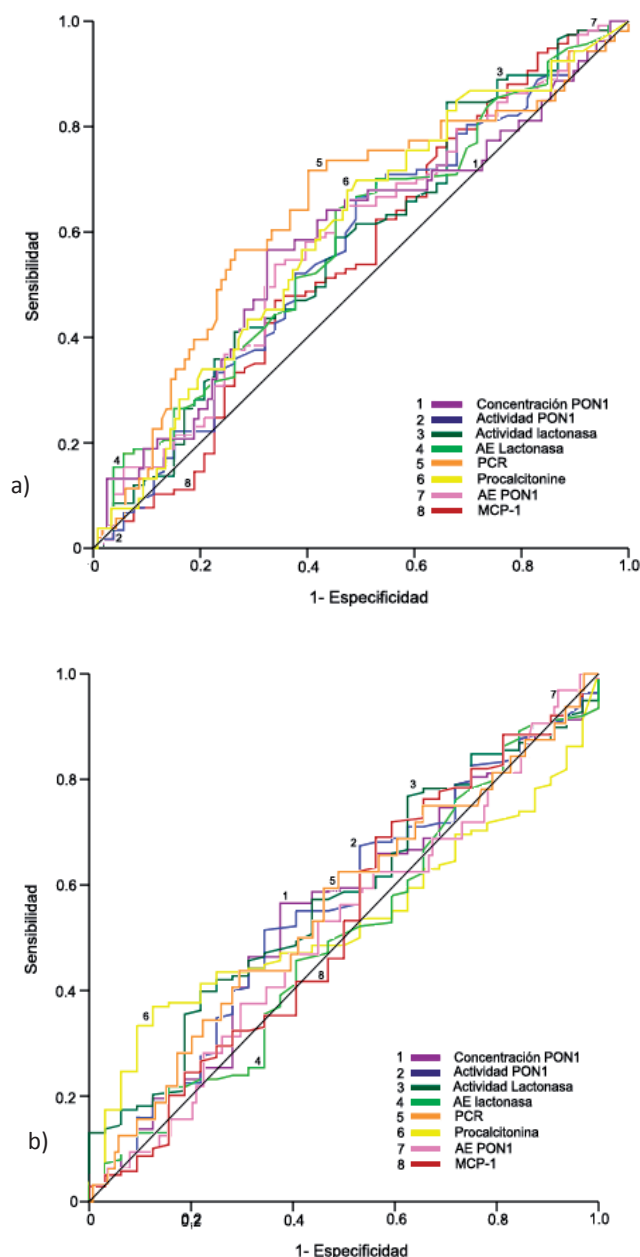
		MCP-1	PCR
Grupo 1 (n = 171)			
Procalcitonina (pg/ml)	r	0,276	0,253
	P	< 0,001	0,001
Grupo 2 (n = 53)			
Procalcitonina (mcg/L)	r	0,354	-
	P	0,009	-
Grupo 3 (n = 32)			
Lactonasa (U/L)	r	-0,511	-
	P	0,003	-
AE Lactonasa (U/mg)	r	-0,488	-
	P	0,005	-

Correlaciones de Spearman; r = coeficiente de correlación Spearman; P = significación estadística; Grupo 1 = pacientes portadores de SU; Grupo 2 = portadores de SU con ICA; Grupo 3 = pacientes con BARSU; AE Lactonasa = Actividad específica Lactonasa (actividad Lactonasa / concentración PON1).

Se encontraron correlaciones lineales directas estadísticamente significativas: para el grupo de pacientes portadores de SU (n = 171) entre valores de procalcitonina y MCP-1, PCR ($r = 0,276$, $P < 0,001$; $r = 0,253$, $P = 0,001$), para los enfermos portadores de SU con ICA (n = 53) entre niveles de procalcitonina y MCP-1 ($r = 0,354$, $P = 0,009$) y para los participantes con BARSU (n = 32) correlaciones inversas entre niveles de Lactonasa y MCP-1 y entre AE Lactonasa y MCP-1 ($r = -0,511$, $P < 0,003$; $r = -0,488$, $P = 0,005$). (Tabla 21)

En la figura 22 presentamos las curvas ROC para los pacientes con ICA (n = 53) y con BARSU (n = 32) en función de niveles de PON1, Lactonasa, MCP, PCR, procalcitonina.

Figura 22. Curvas ROC para los pacientes con: a) infección concomitante aguda (n = 53) y b) con BARSU (n = 32) en función de niveles de PON1 concentración y actividades, MCP, PCR, procalcitonina



BARSU = bacteriuria asintomática relacionada con sonda urinaria; PON1 = paraoxonasa 1; PON1 actividad = actividad esterasa PON1; MCP-1 = *monocyte chemoattractant protein-1*; AE PON1 = Actividad específica PON1 (actividad esterasa PON1/ concentración PON1); AE Lactonasa = Actividad específica Lactonasa (actividad Lactonasa / concentración PON1).

Tabla 22. Áreas bajo la curva ROC para las variables bioquímicas estudiadas

Parámetros	Exactitud diagnóstica entre los pacientes con y sin BARSU			Exactitud diagnóstica entre los pacientes con y sin ICA		
	ABC	Error estándar	IC 95 %	ABC	Error estándar	IC 95 %
PON1 concentración (mg/L)	0,54	0,055	0,44-0,65	0,58	0,049	0,48-0,67
Esterasa paraoxonasa (U/L)	0,55	0,056	0,44-0,66	0,56	0,194	0,46-0,65
Lactonasa (U/L)	0,57	0,053	0,47-0,67	0,57	0,109	0,48-0,67
MCP-1 (ng/L)	0,52	0,059	0,40-0,64	0,54	0,050	0,45-0,64
PCR (mg/L)	0,55	0,059	0,43-0,66	0,63	0,048	0,54-0,73
Procalcitonina (mcg/L)	0,53	0,047	0,43-0,62	0,60	0,046	0,50-0,69
AE PON1 (U/mg)	0,51	0,057	0,40-0,62	0,58	0,075	0,49-0,67
AE Lactonasa (U/mg)	0,50	0,057	0,39-0,61	0,58	0,072	0,49-0,67

ABC: área bajo la curva; BARSU = bacteriuria asintomática relacionada con sonda urinaria; ICA = pacientes con infección concomitante aguda no relacionada con catéter; Error estándar – mediante método Hanley & McNeil. ^a $P < 0,05$, con respecto a procalcitonina; ^b $P < 0,05$, con respecto a PCR; ^c $P < 0,05$, con respecto a MCP-1; ^d $P < 0,01$, con respecto a procalcitonina. PON1 actividad = actividad esterasa PON1; AE PON1 = Actividad específica PON1 (actividad esterasa PON1 / concentración PON1); AE Lactonasa = Actividad específica Lactonasa (actividad Lactonasa / concentración PON1).

La capacidad discriminatoria de la concentración sérica de los distintos parámetros bioquímicos investigados se analizó mediante curvas ROC, para pacientes con/sin infección concomitante aguda y para los participantes con/sin BARSU, sin encontrar resultados significativos. (Figura 22 y Tabla 22)



Discusión

DISCUSIÓN

El papel antioxidante de la enzima PON1 en las enfermedades infecciosas es un área de investigación que permite novedosos abordajes diagnósticos y terapéuticos debido al aumento del estrés oxidativo que podemos observar en estos procesos.^{22,}

189,192,349-357

Esta tesis ha permitido evaluar por primera vez la relación entre los niveles séricos de PON1 concentración y actividades, MCP-1, PCR y procalcitonina de los pacientes portadores de catéteres (CVC, SU) y comparar con un grupo control de personas sanas.

I. Relación entre las variables bioquímicas estudiadas y las características generales de los grupos estudiados

1. Polimorfismos *PON1* en pacientes portadores de catéteres respecto a una población control.

Estudios publicados anteriormente reflejaron diferencias considerables entre poblaciones según orígenes geográficos o étnicos, también describieron variaciones entre el genotipo *PON1*₅₅ y concentraciones de PON1 en suero y entre el polimorfismo *PON1*₁₉₂ y la actividad enzimática PON1.^{67,68}

En nuestro estudio no observamos variaciones en los polimorfismos *PON1*₁₉₂ y *PON1*₅₅, entre el grupo de los pacientes (portadores de CVC o SU) y el grupo control, demostrando así que las alteraciones de los parámetros investigados se deben a la patología de los enfermos y no a variabilidades genotípicas.

2. Variables bioquímicas estudiadas (PON1 y MCP-1) en pacientes portadores de catéter (CVC o SU) respecto a grupo control de participantes sanos.

PON1 hidroliza una amplia gama de sustratos, incluyendo ésteres, lactonas, peróxidos de lípidos, y ésteres de estrógeno.²² Esta falta de especificidad de sustrato es debida probablemente a que PON1 es una enzima ancestral que apareció muy temprano en la evolución y está presente en muchos organismos, desde Invertebrados a Mamíferos.³⁵⁸ Varios estudios establecieron la función primordial de PON1 como lactonasa,¹¹⁷ y posteriormente se describieron nuevas especificidades de sustrato. La evidencia acumulada indica que la función principal de PON1 es degradar los peróxidos lipídicos y las lactonas de QS y que por esta razón juega un papel importante en la inmunidad innata y el estrés oxidativo.²²³

Múltiples estudios experimentales en animales apoyan la función antiinflamatoria de PON1.²² La disminución de la actividad sérica PON1 se ha descrito en diversas enfermedades infecciosas e inflamatorias en humanos, con la consiguiente reducción de la protección anti estrés oxidativo y el consecuente empeoramiento del proceso inflamatorio.²²

Nosotros hemos observado una disminución significativa en la actividad PON1, tanto en portadores de CVC como de SU, que no fue sustrato- específica, estando implicada tanto actividad Lactonasa como Esterasa.

La concentración sérica PON1 no disminuyó, indicando que el descenso de la actividad se debió a la inactivación de la enzima. Como consecuencia de esta reducción, las actividades específicas fueron también bajas.

La inactivación de la actividad sérica PON1 podría ser explicada por tres mecanismos distintos y no excluyentes entre si.

Primero, los pacientes de nuestro estudio tenían una incidencia alta de enfermedades asociadas al estrés oxidativo (diabetes mellitus, EPOC, cardiopatía isquémica, dislipemia, neoplasia, procedimiento quirúrgico).²² PON1 degrada peróxidos lipídicos y el sitio activo para la hidrólisis requiere un grupo sulfhidrilo en cisteína 284. Los peróxidos lipídicos reaccionan covalentemente con este sitio conduciendo a la inactivación enzimática.

Segundo, algunas bacterias pueden bajar la actividad PON1. En las bacterias Gram negativas, las lactonas que ejercen como señales de QS, entran en las células huésped mediante canales de Ca^{2+} y causan rápida inactivación y degradación de PON1.²²³ Los niveles más bajos de actividad lactonasa en los enfermos estudiados en comparación con controles sanos se puede explicar como consumo de esta enzima por su función como QQ. Las PON constituyen un grupo de lactonasas con potencial terapéutico en la lucha contra la formación de biopelículas bacterianas.^{223,359} Se ha descrito que las AHL-lactonasas son capaces de degradar las moléculas señal.^{230,232-236}

Tercero, estudios recientes *in vitro* han mostrado que algunos tratamientos poseen acción inhibitoria de la actividad de PON1. Entre ellos se encuentran varios

antihipertensivos y la metilprednisolona.³⁶⁰ Además, algunos antibióticos como: teicoplanina, rifamicina, tobramicina, ceftriaxona, cefuroxima, ceftazidima, ornidazol y amikacina, también inhiben a la enzima, incluso algunos a dosis muy bajas, por lo que los autores destacan las precauciones que se deben tomar con el uso de estos tratamientos.³⁶¹ 44,73% de nuestros pacientes habían recibido tratamiento antibiótico o antifúngico.

Tal y como observamos en otras publicaciones, MCP-1 está implicada en la reacción inflamatoria y PON1 inhibe su producción, nuestros enfermos comparando con controles sanos, tienen la actividad PON1 más baja y la concentración MCP-1 más elevada.²²

El grupo de pacientes portadores de CVC incluía 73,68% de comorbilidades, presentando valores MCP-1 más elevados comparando con el grupo de portadores de SU, que contenía solo 59,06% participantes con comorbilidades. Esta observación coincide con los resultados de un estudio catalán que durante la resolución del proceso séptico observó una disminución de los niveles de MCP-1 y un incremento de la actividad PON1.³⁶²

3. Relación entre las variables bioquímicas estudiadas y los antecedentes patológicos de los pacientes.

Acorde con resultados descritos por otros investigadores,³⁶³ en los dos grupos del estudio encontramos concentraciones más bajas de PON1 en los pacientes con antecedentes de neoplasia. En este sentido, los resultados de nuestra población sugieren que AE PON1 es un marcador de neoplasia que podría ayudar en la detección precoz de

esta patología, al contrario que en unas publicaciones de origen turco, posiblemente por incremento de prevalencia del polimorfismo *PON1*₁₉₂ en estos estudios.^{207,364,365} Nosotros encontramos valores estadísticamente más elevados en los sujetos a los que se les diagnóstico neoplasia durante 6 meses postestudio. Este hallazgo interesante debe ser confirmado por estudios en series más amplias de pacientes y abre nuevas líneas de investigación en relación a las PON y el cáncer.

La cantidad de MCP-1 circulante varía en función del origen tumoral. En los participantes portadores de CVC con y sin antecedentes de neoplasia observamos niveles más bajos de MCP-1 en el primer subgrupo, probablemente debido a que estos sujetos presentaron cánceres de orígenes muy variados, de predominio gastrointestinal (34,66%), de acuerdo con otros investigadores que asociaron concentraciones bajas de MCP-1 con neoplasias gástricas avanzadas.³⁶⁶ En los portadores de SU, tener antecedentes de neoplasia, se asoció con los niveles séricos de MCP-1 elevados (80,5% de los tumores fueron de origen urinario) como también se demostró en estudios previos, que evidencian producción de MCP-1 por células cancerígenas del tracto urinario.³⁶⁷⁻³⁷⁰

En publicaciones anteriores se describió una correlación directa entre los niveles séricos de MCP-1 y la gravedad del estrés quirúrgico³⁷¹ y entre el tiempo post intervención y los valores de este biomarcador, una semana después de la intervención quirúrgica por neoplasia gastrointestinal los pacientes con y sin complicaciones infecciosas presentaban valores similares de MCP-1.³⁶⁶ Resultados similares observamos en los participantes del grupo de portadores de CVC, en los que la mayoría de intervenciones fueron de tracto digestivo y fueron incluidos en el estudio después de aproximadamente una semana de la realización del procedimiento.

Los valores de PCR, procalcitonina, PON1 varían en función del tipo de cirugía, del tiempo post intervención quirúrgica tal como manifiestan otros autores.^{277,278,372}

II. Relación entre las variables bioquímicas estudiadas e infección

A. Grupo de pacientes portadores de catéter central

1. La gravedad de la infección se correlaciona con los niveles circulantes de PCR, MCP-1, actividad PON1 Esterasa y Lactonasa.

Durante la práctica clínica diaria nos encontramos con pacientes portadores de CVC en los que la decisión de mantener o retirar este dispositivo puede ser difícil. Los pacientes de nuestro estudio estaban ingresados en la planta de hospitalización de agudos en la fase estable de sus diversas patologías, lo que nos permitió evaluar por primera vez las características de las variables bioquímicas estudiadas en este tipo de enfermos.

Observamos un patrón inverso entre los niveles de PCR, MCP-1 y actividad PON1 Esterasa y Lactonasa en pacientes con IRC o con ICA. También destacamos la correlación directa entre el número de días de catéter y las actividades PON1 coincidiendo con la recuperación de estos sujetos. Estos hallazgos se encuentran de acuerdo con lo descrito por Sans *et al.*³⁶² y con numerosas evidencias científicas que relacionan la disminución de las actividades PON1 con las infecciones agudas

(endotoxemia, osteomielitis, hepatitis B, tuberculosis pulmonar activa, infección aguda por *Brucella*, con sepsis, infección por *Helicobacter pylori*, infección por nematodos).^{53,54,62,64,212,373-378}

2. Rendimiento diagnóstico de las variables bioquímicas estudiadas

Los niveles circulantes de biomarcadores dependen del origen, de la extensión de la infección y de los gérmenes que la originan. Las infecciones son complejas, se tienen que valorar en función de un conjunto de parámetros.

AE PON1 y AE Lactonasa disminuyen de forma estadísticamente significativa al tener una infección aguda, tanto IRC como ICA, y son, mediante el análisis de las curvas ROC, de forma estadísticamente significativa los parámetros con mejor capacidad discriminatoria para diagnóstico de ICA. En cuanto a las bacteriemias relacionadas con catéter, encontramos un descenso considerable de estas actividades específicas, pero hemos de tener en consideración que el número de pacientes de este subgrupo es muy bajo para poder sacar conclusiones. Estos resultados nos pueden ayudar mantener los CVC en los pacientes que requieran su uso y valorar mejor las infecciones agudas en los pacientes ingresados en las plantas de hospitalización.

Aunque el número de pacientes investigados es bajo para unos valores *cutoff* confiables, nuestro estudio muestra que las AE PON1 y las AE Lactonasa tienen altos porcentajes de VPN y moderados de VPP para el diagnóstico de ICA, siendo una herramienta útil para evaluar estos enfermos. El rendimiento de estas pruebas es aceptable y similar al de los biomarcadores de rutina.^{284,288}

Procalcitonina fue el parámetro más prometedor para el diagnóstico de bacteriemia²⁸⁴⁻²⁸⁶ y como diagnóstico y pronóstico para infecciones relacionadas con

CVC.²⁸⁷ Varios artículos evidenciaron concentraciones elevadas de MCP-1 en presencia de infecciones agudas.³⁷⁹⁻³⁸¹ En nuestra investigación, MCP-1 presenta capacidad discriminatoria similar a PCR para detectar IRC o ICA, según análisis mediante curvas ROC.

B. Grupo de pacientes portadores de SU

A pesar de la importante morbilidad asociada a ITUs, diagnosticarlas y establecer su gravedad sigue siendo un reto para los profesionales sanitarios. Varios estudios han demostrado que las manifestaciones clínicas de las infecciones cambian con el envejecimiento y en algunos pacientes la anamnesis puede ser muy difícil.³⁸²⁻³⁸⁶ Dadas las limitaciones antes mencionadas, los marcadores biológicos pueden ayudar prevenir, diagnosticar y determinar la gravedad de las ITUs.³⁸⁷⁻³⁹¹

Gau *et al.*³⁹² destacan que los adultos ingresados por patologías agudas frecuentemente presentan bacteriuria. También hay evidencias del incremento del número de enfermedades crónicas con la edad, elevando inevitablemente el riesgo de complicaciones.³⁹³ En la misma línea, observamos que nuestros pacientes con BARSU presentaban edad avanzada y coexistencia de enfermedades crónicas en más ocasiones.

En nuestro estudio, los pacientes con BARSU no presentaron diferencias estadísticas entre los niveles de las variables bioquímicas investigadas comparados con los que no tenían esta infección. Varios factores podrían explicar estos resultados:

Primero, en adultos los marcadores de infección son con frecuencia ligeramente elevados por la presencia de comorbilidades asociadas al estrés oxidativo.^{22,393,360,361}

Segundo, varios estudios pusieron en evidencia que los pacientes con BA están protegidos contra el desarrollo de patología aguda debido a una respuesta débil del huésped a la infección^{394,395} y contra re-infección, si la cepa que llevan compite con las cepas patógenas.³⁹⁶ Un estudio sueco observó que la genética de cada huésped influye directamente en la magnitud de la respuesta inmune en personas con BA.³⁹⁷ Varios autores opinan que la atenuación de virulencia podría constituir un mecanismo general para que los agentes patógenos de las mucosas evolucionen hacia ser comensales.^{397,398}

Tercero, el grupo sulfhidrilo libre de la cisteína 284 es fundamental para la actividad de la enzima contra peróxidos de lípidos.⁹² En ancianos, PON1 tiene una cantidad significativamente menor de los grupos sulfhidrilo libres perdiendo en parte, su capacidad antioxidante.²⁸ Este grupo de nuestro estudio tiene una media de edad elevada, esto podría explicar porque no objetivamos cambios significativos en la actividad/concentración PON1 en los pacientes con infecciones.

Cuarto, el envejecimiento también tiene un impacto significativo en la producción de citoquinas circulantes, los monocitos en ancianos presentan un deterioro de la capacidad migratoria y fagocítica.³⁹⁹ Los monocitos/macrófagos son la principal fuente de MCP-1.⁴⁰⁰ La inmunidad innata controla la defensa antibacteriana del tracto urinario y las moléculas efectoras incluyen citoquinas de las mucosas, quimiocinas y péptidos antibacterianos así como células inflamatorias.⁴⁰¹⁻⁴⁰³ Publicaciones anteriores evidenciaron niveles elevados de MCP-1 en pacientes con ITU febriles, reflejando la severidad de la enfermedad, respuesta influenciada por el género, las enfermedades subyacentes y directamente correlacionada con valores PCR.⁴⁰⁴⁻⁴⁰⁶ Los resultados apoyan la hipótesis sobre el origen de las quimiocinas en las células uroepiteliales en humanos.^{395,407} Así como Godaly *et al.* demostraron en estas líneas de células secreción

de MCP-1 después de infección *in vitro* con *E. coli*, con influencia significativa en función del tipo de fimbrias.⁴⁰⁸

En nuestro estudio, cuanto mayor es el número de UFC/ml de gérmenes, observamos niveles más bajos de concentración PON1, actividad Lactonasa y más elevados de procalcitonina, pero sin significación estadística probablemente debido al bajo tamaño muestral y a la baja repercusión de la BA sobre el sistema inmune.

En el grupo de portadores de SU, la procalcitonina es útil para diferenciar entre pacientes hospitalizados con y sin infección concomitante aguda, pero no discrimina entre pacientes con y sin BARSU. De acuerdo con Stucker *et al.*, que estudió la utilidad de esta variable en ancianos hospitalizados en una unidad geriátrica aguda.⁴⁰⁹ En mayores de 65 años se han realizado varios estudios sobre como interpretar PCR y procalcitonina. Se han comunicado varios valores de *cutoff* para estos biomarcadores, limitando las comparaciones entre estudios, sin embargo se observaron ciertas tendencias sobre su uso en ancianos.⁴¹⁰⁻⁴¹²

Sin embargo, en otros grupos de edad se demostró que la procalcitonina aumenta en embarazadas con BA comparando con gestantes sanas y también que en edad pediátrica puede predecir el daño del parénquima renal.^{289,413-415}

Analizando los pacientes con enfermedad concomitante aguda destacamos un patrón inverso entre niveles de PCR, procalcitonina y AE PON1, AE Lactonasa aunque el número de pacientes investigados es bajo.

Los retrasos en el diagnóstico de ITU pueden dar lugar a malos resultados clínicos, especialmente en los ancianos.⁴¹⁶ Sin embargo, el tratamiento farmacológico innecesario para BA puede ocasionar efectos adversos y un aumento de resistencia antibiótica,⁴¹⁷ se necesitan criterios específicos para diagnóstico y tratamiento.^{418,419}

Conclusiones y Perspectivas

CONCLUSIONES

1. Existe una disminución de las actividades Esterasa y Lactonasa de PON1 en los portadores de CVC y de SU. Esta alteración está asociada a la patología de los enfermos y no se debe a ninguna variabilidad genotípica con respecto al grupo control.
2. Los valores PON1 pueden ser una herramienta útil para el diagnostico de ICA en portadores de CVC. En estos pacientes, la AE PON1 y la AE Lactonasa son los parámetros con mejor capacidad discriminatoria para diagnóstico de ICA proporcionando la posibilidad de diagnostico y tratamiento precoz.
3. En los enfermos con CVC, la concentración MCP-1 presenta capacidad discriminatoria similar a PCR para detectar infecciones agudas, tanto IRC como ICA.
4. La presencia de BARSU en los pacientes hospitalizados no se relaciona con diferencias estadísticas entre los niveles de las variables bioquímicas investigadas en comparación con los que no tenían esta infección.
5. Resultados preliminares sugieren que la concentración y las actividades PON1 podrían relacionarse con la patología tumoral.

PERSPECTIVAS PARA NUEVOS ESTUDIOS

Los resultados de la presente Tesis Doctoral sugieren que en pacientes hospitalizados, la AE PON1 y la AE Lactonasa pueden ser biomarcadores de infecciones agudas, dado su importante papel en la regulación del estrés oxidativo. Estudios posteriores deberían confirmar esta conclusión provisional y establecer puntos de corte definitivos para ayudar a la toma de decisiones clínicas.

La inhibición del QS por parte de PON1 debería estudiarse más a fondo, como una novedosa alternativa o coadyuvante al tratamiento antibiótico, usando su capacidad lactonasa para degradar las moléculas señal y reduciendo la formación de biofilms bacterianos.

El estudio de los valores de AE PON1 y de MCP-1 podría optimizar la detección precoz de patología maligna en nuestra población, dado el hallazgo de alteraciones de estos parámetros en pacientes con nuevo diagnóstico de neoplasia en los 6 meses posteriores al estudio. Ello abre una nueva y prometedora línea de investigación en relación al diagnóstico y tratamiento de diversos tipos de cáncer.

Bibliografía

BIBLIOGRAFÍA

- (1) Sociedad Española de Medicina Preventiva, Salud pública e Higiene. Estudio de prevalencia de las infecciones nosocomiales en España. Estadísticas EPINE 1990-2011. [consultado 16-04-2014]. Disponible en:
<http://hws.vhebron.net/epine/Descargas/Diapos%20resultados%20EPINE%201990-2011.pdf>.
- (2) Clatworthy AE, Pierson E, Hunget DT. Targeting virulence: a new paradigm for antimicrobial therapy. *Nat Chem Biol* 2007; 3:541-8.
- (3) Lipsitch M, Samore MH. Antimicrobial use and antimicrobial resistance: a population perspective. *Emerging Infect Dis* 2002; 8:347-54.
- (4) Technical report. The bacterial challenge: time to react. EMEA doc. ref. MEA/576176/2009. Stockholm: European Centre for Disease Prevention and Control, 2009.
- (5) Programa de Vigilància de les Infeccions Nosocomials als Hospitals de Catalunya (VINCat). Informe 2012. Generalitat de Catalunya. [consultado 11-10-2013]. Disponible en:
<http://www20.gencat.cat/docs/canalsalut/Minisite/VINCat/Documents/Informes/Informe2012agutsv1.pdf>.
- (6) Livermore DL. Has the era of untreatable infections arrived? *J Antimicrob Chemother* 2009; 64(Suppl 1): i29-36.
- (7) Programa de calidad atención especializada. Memoria 2010. Ministerio de sanidad, servicios sociales e igualdad. [Accedido 14-12-2013]. Disponible en:
<http://www.ingesa.msc.es/estadEstudios/documPublica/memorias/nosocomial.htm>.
- (8) Kollef MH, Sherman G, Ward S, Fraseet VJ. Inadequate antimicrobial treatment of infections: a risk factor for hospital mortality among critically ill patients. *Chest* 1999; 115:462-74.
- (9) Kumar A, Roberts D, Wood KE, Light BE, Parrillo JE, Sharmaet S. Duration of hypotension before initiation of effective antimicrobial therapy is the critical determinant of survival in human septic shock. *Crit Care Med* 2006; 34:1589-96.
- (10) John JF, Fishman NO. Programmatic role of the infectious diseases physician in controlling antimicrobial costs in the hospital. *Clin Infect Dis* 1997; 24:471-85.
- (11) Mackness B, Quarck R, Verreth W, Mackness M, Holvoet P. Human Paraoxonase-1 Overexpression Inhibits Atherosclerosis in a Mouse Model of Metabolic Syndrome. *Arterioscler Thromb and Vasc Biol* 2006; 26:1545.
- (12) Ng CJ, Shih DM, Hama SY, Villa N, Navab M, Reddy ST. The paraoxonase gene family and atherosclerosis. *Free Radic Biol Med* 2005; 38(2):153-63.

(13) Carey J Ng, Bourquard N, Hama SY, Shih D, Grijalva VR, Navab M, Fogelman AM, Reddy ST. Adenovirus-Mediated Expression of Human Paraoxonase 3 Protects Against the Progression of Atherosclerosis in Apolipoprotein E-Deficient Mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2007; 27:1368.

(14) Smith RS, Iglewski BH. *P. aeruginosa* quorum-sensing signals and virulence. *Curr Opin Microbiol* 2003; 6:56-60.

(15) Veessenmeyer JL, Hauser AR, Lisboa T, and Rello J. *Pseudomonas aeruginosa* virulence and therapy: evolving translational strategies. *Crit Care Med* 2009; 37:1777-86.

(16) Fuqua C, Greenberg EP. Listening in on bacteria: acyl-homoserinelactone signalling. *Nature Rev* 2002; 3:685-95.

(17) Swift S, Downie JA, Whitehead NA, Barnard AML, Salmond GPC, Williams P. Quorum sensing as a population-density-dependent determinant of bacterial physiology. *Adv Microb Physiol* 2001; 45:199-270.

(18) Williams P, Winzer K, Chan WC, Cámara M. Look who's stalking: communication and quorum sensing in the bacterial world. *Phil Trans R Soc B* 2007; 362:1119-34.

(19) Davey ME, O'toole GA. Microbial Biofilms: from Ecology to Molecular Genetics. *Microbiol Mol Biol Rev* 2000; 64(4):847-67.

(20) Donlan RM. Biofilms: Microbial life on surfaces. *Emerg Infect Dis* 2002; 8(9):881-90.

(21) Potera C. Forging a link between biofilms and disease. *Science* 1999; 283:1837-9.

(22) Camps J, Marsillach J, Joven J. The paraoxonases: role in human diseases and methodological difficulties in measurement. *Crit Rev Clin Lab Sci* 2009; 46(2):83-106.

(23) Primo-Parmo SL, Sorenson RC, Teiber J, La Du BN. The human serum paraoxonase/arylesterase gene (*PON1*) is one member of a multigene family. *Genomics* 1996; 33:498-507.

(24) Sorenson RC, Primo-Parmo SL, Camper SA, La Du BN. The genetic mapping and gene structure of mouse paraoxonase/arylesterase. *Genomics* 1995; 30:431-8.

(25) La Du BN. Human serum paraoxonase/arylesterase. In Kalow W, Ed. *Pharmacogenetics of Drug Metabolism*. Pp 51-91. New York: Pergamon Press, 1992.

(26) Leviev I, Negro F, James RW. Two alleles of the human paraoxonase gene produce different amounts of mRNA. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997; 17:2935-9.

(27) Sierksma A, van der Gaag MS, van Tol A, James RW, Hendriks FJ. Kinetics of HDL cholesterol and paraoxonase activity in moderate alcohol consumers. *Alcohol Clin Exp Res* 2002; 26:1430-5.

- (28) Jaouad L, de Guise C, Berrougui H, Cloutier M, Isabelle M, Fulop T, Pavette H, Khalil A. Age-related decreased in high-density lipoproteins antioxidant activity is due to an alteration in the PON1's free sulfhydryl groups. *Atherosclerosis* 2006; 185:191-200.
- (29) Ng CJ, Wadleigh DJ, Gangopadhyay A, Hama S, Grijalva VR, Navab M, Fogelman AM, Reddy ST. Paraoxonase-2 is a ubiquitously expressed protein with antioxidant properties and is capable of preventing cell-mediated oxidative modification of low density lipoprotein. *J Biol Chem* 2001; 276:44444-9.
- (30) Billecke S, Draganov D, Counsell R, Stetson P, Watson C, Hsu C, La Du BN. Human serum paraoxonase (PON1) isozymes Q and R hydrolyze lactones and cyclic carbonate esters. *Drug Metab Dispos* 2000; 28:1335-42.
- (31) Costa LG, Cole TB, Vitalone A, Furlong CE. Measurement of paraoxonase (PON1) status as a potential biomarker of susceptibility to organophosphate toxicity. *Clin Chim Acta* 2005; 352:37-47.
- (32) Draganov DI, Teiber JF, Speelman A, Osawa Y, Sunahara R, La Du BN. Human paraoxonases (PON1, PON2, and PON3) are lactonases with overlapping and distinct substrate specificities. *J Lip Res* 2005; 46:1239-47.
- (33) Aviram M, Rosenblat M. Paraoxonases 1, 2, and 3, oxidative stress, and macrophage cell formation during atherosclerosis development. *Free Rad Biol Med* 2004; 37:1304-16.
- (34) Horke S, Witte I, Wilgenbus P, Krüger M, Strand D, Förstermann U. Paraoxonase-2 reduces oxidative stress in vascular cells and decreases endoplasmic reticulum stress-induced caspase activation. *Circulation* 2007; 115:2055-64.
- (35) Ng CJ, Hama SY, Bourquard N, Navab M, Reddy ST. Adenovirus mediated expression of human paraoxonase 2 protects against the development of atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice. *Mol Genet Metab* 2006; 89:368-73.
- (36) Shih DM, Xia YR, Wang XP, Wang SS, Bourquard N, Fogelman AM, Lusis AJ, Reddy ST. Decreased obesity and atherosclerosis in human paraoxonase 3 transgenic mice. *Circ Res* 2007; 100:1200-7.
- (37) Ng CJ, Bourquard N, Hama SY, Shih D, Grijalva VR, Navab M, Fogelman AM, Reddy ST. Adenovirus-mediated expression of human paraoxonase 3 protects against the progression of atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2007; 27:1368-74.
- (38) Mazur A. An enzyme in animal tissues capable of hydrolyzing the phosphorus-fluorine bond of alkyl fluorophosphates. *J Biol Chem* 1946; 164:271-89.
- (39) Aldridge WN. Serum esterases I. Two types of esterase (A and B) hydrolysing p-nitrophenyl acetate, propionate and butyrate and a method for their determination. *Biochem J* 1953; 53:110-7.

- (40) Aldridge WN. Serum esterases II. An enzyme hydrolysing diethyl p-nitrophenyl acetate (E600) and its identity with the A-esterase of mammalian sera. *Biochem J* 1953; 53:117-24.
- (41) Can Demirdöğen B, Türkanoglu A, Bek S, Sanisoğlu Y, Demirkaya S, Vural O, Arınç E, Adali O. Paraoxonase/arylesterase ratio, PON1 192Q/R polymorphism and PON1 status are associated with increased risk of ischemic stroke. *Clin Biochem* 2008; 41(1-2):1-9.
- (42) Shin BS, Oh SY, Kim YS, Kim KW. The paraoxonase gene polymorphism in stroke patients and lipid profile. *Acta Neurol Scand* 2008; 117:237-43.
- (43) Lee HG, Castellani RJ, Zhu X, Perry G, Smith MA. Amyloid beta in Alzheimer's disease: the horse or the cart? Pathogenic or protective? *Int J Exp Pathol* 2005; 86:133-8.
- (44) Mohs RC. The clinical syndrome of Alzheimer's disease: aspects particularly relevant to clinical trials. *Genes Brain Behav* 2005; 15:129-33.
- (45) Roher AE, Esh C, Rahman A, Kokjohn TA, Beach TG. Atherosclerosis of cerebral arteries in Alzheimer disease. *Stroke* 2004; 35:2623-7.
- (46) Farrer LA. Genetics and the dementia patient. *Neurologist* 1997; 3:13-30.
- (47) Dirican M, Akca R, Sarandol E, Dilek K. Serum paraoxonase activity in uremic predialysis and hemodialysis patients. *J Nephrol* 2004; 17:813-8.
- (48) Kalogerakis G, Baker AM, Christov S, Rowley KG, Dwyer K, Winterbourn C, Best JD, Jenkins AJ. Oxidative stress and high-density lipoprotein function in Type I diabetes and end-stage renal disease. *Clin Sci (Lond)* 2005; 108:497-506.
- (49) Rothem L, Hartman C, Dahan A, Lachter J, Eliakim R, Shamir R. Paraoxonases are associated with intestinal inflammatory diseases and intracellularly localized to the endoplasmic reticulum. *Free Rad Biol Med* 2007; 43:730-9.
- (50) Tripi LM, Manzi S, Chen Q, Kenney M, Shaw P, Kao A, Bontempo F, Kammerer C, Kamboh MI. Relationship of serum paraoxonase 1 activity and paraoxonase 1 genotype to risk of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 2006; 54:1928-39.
- (51) Ferré N, Camps J, Cabré M, Paul A, Joven J. Hepatic paraoxonase activity alterations and free radical production in rats with experimental cirrhosis. *Metabolism* 2001; 50:997-1000.
- (52) James RW, Leviev I, Ruiz J, Passa P, Froguel P, Blatter Garin MC. Promoter polymorphism T(-107)C of the paraoxonase PON1 gene is a risk factor for coronary heart disease in type 2 diabetic patients. *Diabetes* 2000; 49:1390-3.
- (53) Novak F, Vavrova L, Kodydkova J, Novak F Sr, Hynkova M, Zak A, Novakova O. Decreased paraoxonase activity in critically ill patients with sepsis. *Clin Exp Med* 2010; 10(1):21-5.

- (54) Parra S, Alonso-Villaverde C, Coll B, Ferré N, Marsillach J, Aragonès G, Mackness M, Mackness B, Masana L, Joven J, Camps J. Serum paraoxonase-1 activity and concentration are influenced by human immunodeficiency virus infection. *Atherosclerosis* 2007; 194:175–81.
- (55) Ozer EA, Pezzulo A, Shih DM, Chun C, Furlong C, Lusis AJ, Greenberg EP, Zabner J. Human and murine paraoxonase 1 are host modulators of *Pseudomonas aeruginosa* quorum sensing. *FEMS Microbiol Lett* 2005; 253:29–37.
- (56) Stoltz DA, Ozer EA, Ng CJ, Yu JM, Reddy ST, Lusis AJ, Bourquard N, Parsek MR, Zabner J, Shih DM. Paraoxonase-2 deficiency enhances *Pseudomonas aeruginosa* quorum sensing in murine tracheal epithelia. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2007; 292:852-60.
- (57) Estin ML, Stoltz DA, Zabner J. Paraoxonase 1, Quorum Sensing, and *P. aeruginosa* Infection: A Novel Model. *Adv Exp Med Biol* 2010; 660:183-93.
- (58) Stoltz DA, Ozer EA, Taft PJ, Barry M, Liu L, Kiss PJ, Moninger TO, Parsek MR, Zabner J. Drosophila are protected from *Pseudomonas aeruginosa* lethality by transgenic expresión of paraoxonase-1. *J Clin Invest* 2008; 118:3123–31.
- (59) Aslan M, Nazligul Y, Horoz M, Bolukbas C, Bolukbas FF, Gur M, Celik H, Erel O. Serum paraoxonase-1 activity in *Helicobacter pylori* infected subjects. *Atherosclerosis* 2008; 196:270–4.
- (60) Apostolou F, Gazi IF, Kostoula A, Tellis CC, Tselepis AD. Persistence of an atherogenic lipid profile after treatment of acute infection with *Brucella*. *J Lipid Res* 2009; 50(12):2532-9.
- (61) Campbell LA, Yaraei K, Van Lenten B, Chait A, Blessing E, Kuo CC, Nosaka T, Ricks J, Rosenfeld ME. The acute phase reactant response to respiratory infection with *Chlamydia pneumoniae*: implications for the pathogenesis of atherosclerosis. *Microbes Infect* 2010; 12(8-9):598-606.
- (62) Selek S, Cosar N, Kocyigit A, Erel O, Aksoy N, Gencer M, Gunak F, Aslan M. PON1 activity and total oxidant status in patients with active pulmonary tuberculosis. *Clin Biochem* 2008; 41(3):140-4.
- (63) Apostolou F, Gazi IF, Lagos K, Tellis CC, Tselepis AD, Liberopoulos EN, Elisaf M. Acute infection with Epstein-Barr virus is associated with atherogenic lipid changes. *Atherosclerosis* 2010; 212(2):607-13.
- (64) Farid AS, Mido S, Linh BK, Hayashi T, Horii Y. An atherogenic lipid profile with low serum paraoxonase-1 activity during nematode infection in rats. *Eur J Clin Invest* 2010; 40(11):984-93.
- (65) Eckerson HW, Romson J, Wyte C, La Du BN. The human serum paraoxonase polymorphism: identification of phenotypes by their response to salts. *Am J Hum Genet* 1983; 35(2):214–27.

- (66) Geldmacher-von Mallinckrodt M, Diepgen TL, Duhme C, Hommel G. A study of the polymorphism and ethnic distribution differences of human serum paraoxonase. *Am J Phys Anthropol* 1983; 62(3):235-41.
- (67) Garin MC, James RW, Dussoix P, Blanché H, Passa P, Froguel P, Ruiz J. Paraoxonase polymorphism Met-Leu54 is associated with modified serum concentrations of the enzyme. A possible link between the paraoxonase gene and increased risk of cardiovascular disease in diabetes. *J Clin Invest* 1997; 99(1):62-6.
- (68) Diepgen TL, Geldmacher von Mallinckrodt M. The human serum paraoxonase polymorphism. *Arch Toxicol Suppl* 1986; 9:154-8.
- (69) Furlong CE. Paraoxonases: An historical perspective. In Mackness B, Mackness M, Aviram M, Paragh G, Eds. *The Paraoxonases: Their Role in Disease Development and Xenobiotic Metabolism*. Dordrecht: Springer, 2008. 3-31.
- (70) Davies H, Richter RJ, Keifer M, Broomfield C, Sowalla J, Furlong CE. The effect of the human serum paraoxonase polymorphism is reversed with diazoxon, soman and sarin. *Nat Genet* 1996; 14:334-36.
- (71) Eckerson HW, Romson J, Wyte C, La Du BN. The human serum paraoxonase polymorphism: Identification of phenotypes by their response to salts. *Am J Hum Genet* 1983; 35:214-27.
- (72) Eckerson HW, Wyte CM, La Du BN. The human serum paraoxonase/arylesterase polymorphism. *Am J Hum Genet* 1983; 35:1126-38.
- (73) Adkins S, Gan Kn, Mody M, La Du BN. Molecular basis for the polymorphic forms of human serum paraoxonase/arylesterase: Glutamine or arginine at position 191 for the respective A or B allozymes. *Am J Hum Genet* 1993; 52:598-608.
- (74) Ruiz J, Blanché H, James RW, Garin MC, Vaisse C, Charpentier G, Cohen N, Morabia A, Passa P, Froguel P. Gln-Arg192 polymorphism of paraoxonase and coronary heart disease in type 2 diabetes. *Lancet* 1995; 346:869-72.
- (75) Serrato M, Marian AJ. A variant of human paraoxonase/arylesterase (HUM-PONA) gene is a risk factor for coronary artery disease. *J Clin Invest* 1995; 96:3005-8.
- (76) Mackness B, Mackness MI, Durrington PN, Arrol S, Evans AE, McMaster D, Ferrières J, Ruidavets JB, Williams NR, Howard AN. Paraoxonase activity in two healthy populations with differing rates of coronary heart disease. *Eur J Clin Invest* 2000; 30:4-10.
- (77) Hassett C, Richter RJ, Humbert R, Chapline C, Crabb JW, Omiecinski CJ, Furlong CE. Characterization of cDNA clones encoding rabbit and human serum paraoxonase: the mature protein retains its signal sequence. *Biochemistry* 1991; 30:10141-9.
- (78) Marsillach J, Mackness B, Mackness M, Riu F, Beltrán R, Joven J, Camps J. Immunohistochemical analysis of paraoxonases-1, 2, and 3 expression in normal mouse tissues. *Free Rad Biol Med* 2008; 45:146-57.
-

- (79) Pellin MC, Moretto A, Lotti M, Vilanova E. Distribution and some biochemical properties of rat paraoxonase activity. *Neurotoxicol Teratol* 1990; 12:611-14.
- (80) Gil F, Pla A, Gonzalvo MC, Hernández AF, Villanueva E. Rat liver paraoxonase: subcellular distribution and characterization. *Chem Biol Interact* 1993; 87:149-54.
- (81) Gil F, Pla A, Gonzalvo MC, Hernández AF, Villanueva E. Partial purification of paraoxonase from rat liver. *Chem Biol Interact* 1993; 87:69-75.
- (82) Huang YS, Woods L, Sultatos LG. Solubilization and purification of A-esterase from mouse hepatic microsomes. *Biochem Pharmacol* 1994; 48:1273-80.
- (83) Rodrigo L, Gil F, Hernandez AF, Marina A, Vazquez J, Pla A. Purification and characterization of paraoxon hydrolase from rat liver. *Biochem J* 1997; 321:595-601.
- (84) Gonzalvo MC, Gil F, Hernández AF, Villanueva E, Pla A. Inhibition of paraoxonase activity in human liver microsomes by exposure to EDTA, metals and mercurials. *Chem Biol Interact* 1997; 105:169-79.
- (85) Feingold KR, Memon RA, Moser AH, Grunfeld C. Paraoxonase activity in the serum and hepatic mRNA levels decrease during the acute phase response. *Atherosclerosis* 1998; 139:307-15.
- (86) Esterbauer H, Cheeseman KH. Determination of aldehydic peroxidation products: malondialdehyde and 4-hydroxynonenal. *Methods Enzymol* 1990; 186:407-21.
- (87) Rodrigo L, Hernández AF, López-Caballero JJ, Gil F, Pla A. Immunohistochemical evidence for the expression and induction of paraoxonase in rat liver, kidney, lung and brain tissue. Implications for its physiological role. *Chem Biol Interact* 2001; 137:123-37.
- (88) Mackness MI, Arrol S, Durrington PN. Paraoxonase prevents accumulation of lipoperoxides in low-density lipoprotein. *FEBS Lett* 1991; 286:152-4.
- (89) Mackness MI, Arrol S, Abbott CA, Durrington PN. Protection of low-density lipoprotein against oxidative modification by high-density lipoprotein associated paraoxonase. *Atherosclerosis* 1993; 104:129-35.
- (90) Navab M, Berliner JA, Watson AD, Hama SY, Territo MC, Lusis AJ, Shih DM, Van Lenten BJ, Frank JS, Demer LL, Edwards DA, Fogelman AM. The yin and yang of oxidation in the development of the fatty streak: a review based on the 1994 George Lyman Duff Memorial Lecture. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1996; 16:152-4.
- (91) Aviram M, Rosenblat M, Bisgaier CL, Newton RS, Primo-Parmo SL, La Du BN. Paraoxonase inhibits high density lipoprotein (HDL) oxidation and preserves its functions: a possible peroxidative role for paraoxonase. *J Clin Invest* 1998; 101:1581-90.
- (92) Aviram M, Billecke S, Sorenson R, Bisgaier C, Newton RS, Rosenblat M, Eroglu J, Hsu C, Dunlop C, La Du BN. Paraoxonase active site required for protection against

LDL oxidation involves its free sulfhydryl group and is different from that required for its arylesterase/paraoxonase activities: selective action of human paraoxonase allozymes Q and R. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1998; 18:1617-24.

(93) Mackness MI, Durrington PN, Mackness B. How high-density lipoprotein protects against the effects of lipid peroxidation. *Curr Opin Lipidol* 2000; 11:383-8.

(94) Ahmed Z, Ravandi A, Maguire GF, Emili A, Draganov DI, La Du BN, Kuksis A, Connelly PW. Apolipoprotein A-I promotes the formation of phosphatidylcholine core aldehydes that are hydrolyzed by paraoxonase (pon-1) during high density lipoprotein oxidation with a peroxynitrite donor. *J Biol Chem* 2001; 276: 24473-81.

(95) Sanvanich P, Mackness B, Gaskell SJ, Durrington P, Mackness M. The effect of high-density lipoproteins on the formation of lipid/protein conjugates during in vitro oxidation of low-density lipoprotein. *Biochem Biophys Res Commun* 2003; 300:501-6.

(96) Mertens A, Verhamme P, Bielicki JK, Phillips MC, Quarck R, Verreth W, Stengel D, Ninio E, Navab M, Mackness B, Mackness M, Holvoet P. Increased low-density lipoprotein oxidation and impaired high-density lipoprotein antioxidant defense are associated with increased macrophage homing and atherosclerosis in dyslipidemic obese mice: LCAT gene transfer decreases atherosclerosis. *Circulation* 2003; 107: 1640-6.

(97) Shih DM, Gu L, Xia YR, Navab M, Li WF, Hama S, Castellani LW, Furlong CE, Costa LG, Fogelman AM, Lusis AJ. Mice lacking serum paraoxonase are susceptible to organophosphate toxicity and atherosclerosis. *Nature* 1998; 394:284-7.

(98) Shih DM, Xia YR, Miller E, Castellani LW, Subbanagounder G, Cheroutre H, Faull KF, Berliner JA, Witztum JL, Lusis AJ. Combined serum paraoxonase knockout/apolipoprotein E knockout mice exhibit increased lipoprotein oxidation and atherosclerosis. *J Biol Chem* 2000; 275:17527-35.

(99) Tward A, Xia YR, Wang XP, Shi YS, Park C, Castellani LW, Lusis AJ, Shih DM. Decreased atherosclerotic lesion formation in human serum paraoxonase transgenic mice. *Circulation* 2002; 106:484-90.

(100) Oda MN, Bielicki JK, Ho TT, Berger T, Rubin EM, Forte TM. Paraoxonase 1 overexpression in mice and its effect of high-density lipoproteins. *Biochem Biophys Res Commun* 2002; 290:921-7.

(101) Mackness B, Durrington PN, Mackness MI. Lack of protection against oxidative modification of LDL by avian HDL. *Biochem Biophys Res Commun* 1998; 247:443-6.

(102) Teiber JF, Draganov DI, La Du B. Purified human serum PON1 does not protect LDL against oxidation in the in vitro assays initiated with copper or AAPH. *J Lip Res* 2004; 45:2260-8.

(103) Rosenblat M, Karry R, Aviram M. Paraoxonase 1 (PON1) is a more potent antioxidant and stimulant of macrophage cholesterol efflux, when present in HDL than in lipoprotein-deficient serum: Relevance to diabetes. *Atherosclerosis* 2006; 187:74-81.

- (104) Rozenberg O, Shiner M, Aviram M, Hayek T. Paraoxonase 1 (PON1) attenuates diabetes development in mice through its antioxidative properties. *Free Rad Biol Med* 2008; 44:1951-9.
- (105) Liu Y, Mackness B, Mackness M. Comparison of the ability of paraoxonases 1 and 3 to attenuate the in vitro oxidation of low-density lipoprotein and reduce macrophage oxidative stress. *Free Rad Biol Med* 2008; 45:743-8.
- (106) Aviram M, Rosenblat M, Billecke S, Eroglu J, Sorenson R, Bisgaier CL, Newton RS, La Du B. Human serum paraoxonase (PON1) is inactivated by oxidized low density lipoprotein and preserved by antioxidants. *Free Rad Biol Med* 1999; 26:892-904.
- (107) Rozenberg O, Aviram M. S-glutathionylation regulates HDL-associated paraoxonase 1 (PON1) activity. *Biochem Biophys Res Commun* 2006; 351:492-8.
- (108) Jakubowski H. Calcium-dependent human serum homocysteinethiolactone hydrolase. A protective mechanism against protein N-homocysteinylation. *J Biol Chem* 2000; 275:3957-62.
- (109) Teiber JF, Draganov DI, La Du BN. Lactonase and lactonizing activities of human serum paraoxonase (PON1) and rabbit serum PON3. *Biochem Pharmacol* 2003; 66:887-96.
- (110) Davies HG, Richter RJ, Keifer M, Broomfield CA, Sowalla J, Furlong CE. The effect of the human serum paraoxonase polymorphism is reversed with diazoxon, soman and sarin. *Nat Genet* 1996; 14:334-6.
- (111) Teiber JF, Billecke SS, La Du BN, Draganov DI. Estrogen esters as substrates for human paraoxonases. *Arch Biochem Biophys* 2007; 461:24-9.
- (112) La Du BN, Aviram M, Billecke S, Navab M, Primo-Parmo S, Sorenson RC, Standiford TJ. On the physiological role(s) of the paraoxonases. *Chem Biol Interact* 1999; 119:379-88.
- (113) Biggadike K, Angell RM, Burgess CM, Farrell RM, Hancock AP, Harker AJ, Irving WR, Ioannou C, Procopiou PA, Shaw RE, Solanke YE, Singh OM, Snowden MA, Stubbs RJ, Walton S, Weston HE. Selective plasma hydrolysis of glucocorticoid gamma-lactones and cyclic carbonates by the enzyme paraoxonase: an ideal plasma inactivation mechanism. *J Med Chem* 2000; 43:19-21.
- (114) Rodrigo L, Mackness B, Durrington PN, Hernández A, Mackness MI. Hydrolysis of platelet-activating factor by human serum paraoxonase. *Biochem J* 2001; 354:1-7.
- (115) Marathe G, Zimmerman G, McIntyre T. Platelet-activating factor acetylhydrolase, and not paraoxonase-1, is the oxidized phospholipid hydrolase of high density lipoprotein particles. *J Biol Chem* 2003; 278:3937-47.
- (116) Harel M, Aharoni A, Gaidukov L, Brumshtein B, Khersonsky O, Meged R, Dvir H, Ravelli RB, McCarthy A, Toker L, Silman I, Sussman JL, Tawfik DS. Structure and

evolution of the human serum paraoxonase family of detoxifying and anti-atherosclerotic enzymes. *Nat Struct Mol Biol* 2004; 11:412-9.

(117) Khersonsky O, Roodveldt C, Tawfik DS. Enzyme promiscuity: evolutionary and mechanistic aspects. *Curr Opin Chem Biol* 2006; 10:498-508.

(118) Jensen RA. Enzyme recruitment in the evolution of new function. *Annu Rev Microbiol* 1974; 30:409-25.

(119) O'Brien PJ, Herschlag D. Catalytic promiscuity and the evolution of new enzymatic activities. *Chem Biol* 1999; 6:R91-R105.

(120) Copley SD. Enzymes with extra talents: moonlighting functions and catalytic promiscuity. *Curr Opin Chem Biol* 2003; 7:265-72.

(121) Bornscheuer UT, Kazlauskas RJ. Catalytic promiscuity in biocatalysis: using old enzymes to form new bonds and follow new pathways. *Angew Chem Int Engl* 2004; 43: 6032-40.

(122) Kazlauskas RJ. Enhancing catalytic promiscuity for biocatalysis. *Curr Opin Chem Biol* 2005; 9:195-201.

(123) Aharoni A, Gaidukov L, Yagur S, Toker L, Silman I, Tawfik DS. Directed evolution of mammalian paraoxonases PON1 and PON3 for bacterial expression and catalytic specialization. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004; 101:482-7.

(124) Aharoni A, Gaidukov L, Khersonsky O, McQGould S, Roodveldt C, Tawfik DS. The 'evolvability' of promiscuous protein functions. *Nat Genet* 2005; 37:73-6.

(125) Khersonsky O, Tawfik DS. Structure-reactivity studies of serum paraoxonase PON1 suggest that its native activity is lactonase. *Biochemistry* 2005; 44:6371-82.

(126) Aharoni A, Amitai G, Bernath K, Magdassi S, Tawfik DS. High-throughput screening of enzyme libraries: thiolactonases evolved by fluorescence-activated sorting of single cells in emulsion compartments. *Chem Biol* 2005; 12:1281-9.

(127) Khersonsky O, Tawfik DS. The histidine 115-histidine 134 mediates the lactonase activity of mammalian serum paraoxonases. *J Biol Chem* 2006; 281:7649-56.

(128) Rosenblat M, Gaidukov L, Khersonsky O, Vaya J, Oren R, Tawfik DS, Aviram M. The catalytic histidine dyad of high density lipoprotein-associated serum paraoxonase-1 (PON1) is essential for PON1-mediated inhibition of low density lipoprotein oxidation and stimulation of macrophage cholesterol efflux. *J Biol Chem* 2006; 182:7657-65.

(129) Rosenblat M, Vaya J, Shih D, Aviram M. Paraoxonase 1 (PON1) enhances HDL-mediated macrophage cholesterol efflux via the ABCA1 transporter in association with increased HDL binding to the cells: a possible role for lysophosphatidylcholine. *Atherosclerosis* 2005; 179:69-77.

- (130) Tavori H, Khatib S, Aviram M, Vaya J. Characterization of the PON1 active site using modeling simulation, in relation to PON1 lactonase activity. *Bioorg Med Chem* 2008; 16:7504-9.
- (131) Navab M, Ananthramaiah GM, Reddy ST, Van Lenten BJ, Ansell BJ, Fonarow GC, Vahabzadeh K, Hama S, Hough G, Kamranpour N, Berliner JA, Lusis AJ, Fogelman AM. The oxidation hypothesis of atherogenesis: the role of oxidized phospholipids and HDL. *J Lipid Res*. 2004; 45(6):993-1007.
- (132) Navab M, Hama SY, Cooke CJ, Anantharamaiah GM, Chaddha M, Jin L, Subbanagounder G, Faull KF, Reddy ST, Miller NE, Fogelman AM. Normal high density lipoprotein inhibits three steps in the formation of mildly oxidized low density lipoprotein: step 1. *J Lipid Res* 2000; 41:1481-4.
- (133) Clay MA, Pyle DH, Rye KA, Vadas MA, Gamble JR, Barter PJ. Time sequence of the inhibition of endothelial adhesion molecule expression by reconstituted high density lipoproteins. *Atherosclerosis* 2001;157(1):23-9.
- (134) Bork RW, Svenson KL, Mehrabian M, Lusis AJ, Fogelman AM, Edwards PA. Mechanisms controlling competence gene expression in murine fibroblasts stimulated with minimally modified LDL. *Arterioscler and Thromb* 1992; 12(7):800-6.
- (135) Stafforini DM, McIntyre TM, Zimmerman GA, Prescott SM. Platelet-activating factor acetylhydrolases. *J Biol Chem* 1997; 272(29):17895-8.
- (136) Ferré N, Camps J, Joven J. Paraoxonasas, acción antioxidante de las HDL y respuesta inflamatoria. *Cardiovascular risk factors* 2004; 13(2):106-14.
- (137) Navab M, Ananthramaiah GM, Reddy ST, Van Lenten BJ, Ansell BJ, Fonarow GC, Vahabzadeh K, Hama S, Hough G, Kamranpour N, Berliner JA, Lusis AJ, Fogelman AM. The oxidation hypothesis of atherogenesis: the role of oxidized phospholipids and HDL. *J Lip Res* 2004; 45:993-1007.
- (138) Navab M, Hama SY, Anantharamaiah GM, Hassan K, Hough GP, Watson AD, Reddy ST, Sevanian A, Fonarow GC, Fogelman AM. Normal high density lipoprotein inhibits three steps in the formation of mildly oxidized low density lipoprotein: steps 2 and 3. *J Lip Res* 2000; 41:1485-508.
- (139) Negre-Salvayre A, Dousset N, Ferretti G, Bacchetti T, Curatola G, Salvayre R. Antioxidant and cytoprotective properties of high-density lipoproteins in vascular cells. *Free Rad Biol Med* 2006; 41:1031-40.
- (140) Clay MA, Pyle DH, Rye KA, Vadas MA, Barter PJ. Time sequence of inhibition of endothelial adhesion molecule expression by reconstituted high density lipoproteins. *Atherosclerosis* 2001; 157:23-9.
- (141) Cockerill GW, Rye KA, Gamble JR, Vadas MA, Barter PJ. High density lipoproteins inhibit cytokine induced expression of endothelial cell adhesion molecules. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1995; 15:1987-94.

- (142) Calabresi L, Gomaraschi M, Vilia B, Omobani L, Dmitrieff C, Franceschini GE. Elevated soluble adhesion molecules in subjects with low HDL-cholesterol. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2002; 22:656-61.
- (143) Cockerill GW, Huckins TY, Weerasingh A, Stocker C, Lerch PG, Miller NE, Haskard DO. Elevation of plasma high-density lipoprotein concentration reduces interleukin-1-induced expression of E-selectin in an in vivo model of acute inflammation. *Circulation* 2001; 103:108-12.
- (144) Cockerill GW, McDonald MC, Mota-Filipe H, Cuzzocrea S, Miller NE, Thiemermann C. High density lipoproteins reduce organ injury and organ dysfunction in a rat model of hemorrhagic shock. *FASEB J* 2001; 15:1941-52.
- (145) Birjmohun RS, Van Leuven SI, Levels JHM, Van't Veer C, Kuivenhoven JA, meijers JCM, Levi M, Kastelein JJP, Van der Poll T, Stroes ESG. High-density lipoprotein attenuates inflammation and coagulation on endotoxin challenge in humans. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2007; 27:1153-8.
- (146) Simpson KJ, Henderson NC, Bone-Larson CL, Lukacs NW, Hogaboam CM, Kunkel SL. Chemokines in the pathogenesis of liver disease: so many players with poorly defined roles. *Clin Sci (Lond)* 2003; 104:47-63.
- (147) Parola M, Bellomo G, Robino G, Barrera G, Dianzani MU. 4-Hydroxynonenal as a biological signal: molecular basis and pathophysiological implications. *Antioxidant Redox Signaling* 1999; 1:255-84.
- (148) Zamara E, Novo E, Marra F, Gentilini A, Romanelli RG, Caligiuri A, Robino G, Tamagno E, Aragno M, Danni O, Autelli R, Colombatto S, Dianzani MU, Pinzani M, Parola M. 4-Hydroxynonenal as a selective pro-fibrogenic stimulus for activated human hepatic stellate cells. *J Hepatol* 2004; 40:60-8.
- (149) Navab M, Berliner JA, Subbanagounder G, Hama S, Lusis AJ, Castellani LW, Reddy S, Shih D, Shi W, Watson AD, Van Lenten BJ, Vora D, Fogelman AM. HDL and the inflammatory response induced by LDL-derived oxidised phospholipids. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2001; 21:481-8.
- (150) Navab M, Imes SS, Hama SY, Hough GP, Ross LA, Bork RW, Valente AJ, Berliner JA, Drinkwater DC, Laks H, Fogelman AM. Monocyte transmigration induced by modification of low density lipoprotein in cocultures of human aortic wall cells is due to induction of monocyte chemotactic protein 1 synthesis and is abolished by high density lipoprotein. *J Clin Invest* 1991; 88:2039-46.
- (151) Watson AD, Berliner JA, Hama SY, La Du BN, Fault KF, Fogelman AM, Navab M. Protective effect of high density lipoprotein associated paraoxonase. Inhibition of the biological activity of minimally oxidised low-density lipoprotein. *J Clin Invest* 1995; 96:2882-91.
- (152) Mackness B, Hine D, Liu Y, Mastorikou M, Mackness M. Paraonase-1 inhibits oxidised LDL-induced MCP-1 production by endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2004; 318:680-3.

- (153) Tward A, Xia YR, Wang XP, Shi YS, Park C, Castellani LW, Lusis AJ, Shih DM. Decreased atherosclerotic lesion formation in human serum paraoxonase transgenic mice. *Circulation* 2002; 106:484-90.
- (154) Rozenberg O, Rosenblat M, Coleman R, Shih DM, Aviram M. Paraoxonase (PON1) deficiency is associated with increased macrophage oxidative stress: studies in PON1-knockout mice. *Free Rad Biol Med* 2003; 34:774-84.
- (155) Moore RE, Navab M, Millar JS, Zimetti F, Hama S, Rothblat GH, Rader DJ. Increased atherosclerosis in mice lacking apolipoprotein A-I attributable to both impaired cholesterol transport and increased inflammation. *Circ Res* 2005; 97:763-71.
- (156) Ng DS, Chu T, Esposito B, Hui P, Connelly PW, Gross PL. Paraoxonase-1 deficiency in mice predisposes to vascular inflammation, oxidative stress, and thrombogenicity in the absence of hyperlipidemia. *Cardiovasc Pathol* 2008; 17(4):226-32.
- (157) Verreth W, De KD, Pelat M, Verhamme P, Ganame J, Bielicki JK, Mertens A, Quarck R, Benhabiles N, Marguerie G, Mackness B, Mackness M, Ninio E, Herregods MC, Balligand JL, Holvoet P. Weight loss-associated induction of peroxisome proliferator-activated receptor-alpha and peroxisome proliferator-activated receptor-gamma correlate with reduced atherosclerosis and improved cardiovascular function in obese insulin-resistant mice. *Circulation* 2004; 110:3259-69.
- (158) Mertens A, Verhamme P, Bielicki JK, Phillips MC, Quarck R, Verreth W, Stengel D, Ninio E, Navab M, Mackness B, Mackness M, Holvoet P. Increased low-density lipoprotein oxidation and impaired high-density lipoprotein antioxidant defense are associated with increased macrophage homing and atherosclerosis in dyslipidemic obese mice: LCAT gene transfer decreases atherosclerosis. *Circulation* 2003; 107:1640-6.
- (159) Mackness B, Quarck R, Verreth W, Mackness M, Holvoet P. Human paraoxonase-1 overexpression inhibits atherosclerosis in a mouse model of metabolic syndrome. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2006; 26:1545-50.
- (160) Khovidhunkit W, Memon RA, Feingold KR, Grunfeld C. Infection and inflammation-induced proatherogenic changes of lipoproteins. *J Infect Dis* 2000; 181(Suppl.3):S462-72.
- (161) Samokyszyn VM, Miller DM, Reif DW, Aust SD. Inhibition of superoxide and ferritin-dependent lipid peroxidation by ceruloplasmin. *J Biol Chem* 1989; 264:21-6.
- (162) Ehrenwald E, Chisholm GM, Fox PL. Intact human ceruloplasmin oxidatively modifies low density lipoprotein. *J Clin Invest* 1994; 93:1493-501.
- (163) Van Lenten BJ, Hama SY, De Beer FC, Stafforini DM, McIntyre TM, Prescott SM, La Du BN, Fogelman AM, Navab M. Anti-inflammatory HDL becomes pro-inflammatory during the acute phase response. *J Clin Invest* 1995; 96:2758-67.

- (164) Van Lenten BJ, Reddy ST, Navab M, Fogelman AM. Understanding changes in high density lipoproteins during the acute phase response. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2006; 26:1687-8.
- (165) Navab M, Anantharamaiah GM, Reddy ST, Van Lenten BJ, Ansell B, Fogelman AM. Mechanisms of disease: proatherogenic HDL – an evolving field. *Nature Clin Pract Endocr Metab* 2006; 2:504-11.
- (166) Cabana VG, Reardon CA, Feng N, Neath S, Lukens J, Getz GS. Serum paraoxonase: effect of the apolipoprotein composition of HDL and the acute phase response. *J Lip Res* 2003; 44:780-92.
- (167) Bergmeier C, Siekmeier R, Gross W. Distribution spectrum of paraoxonase activity in HDL fractions. *Clin Chem* 2004; 50:2309-15.
- (168) Ribas V, Sánchez-Quesada J, Antón R, Camacho M, Julve J, Escolà-Gil JC, Vila L, Ordóñez-Llanos J, Blanco-Vaca F. Human apolipoprotein A-II enrichment displaces paraoxonase from HDL and impairs its antioxidant properties. A new mechanism linking HDL protein composition and antiatherogenic potential. *Circ Res* 2004; 95:789-97.
- (169) Feingold KR, Memon RA, Mosser AH, Grunfeld C. Paraoxonase activity in the serum and hepatic mRNA levels decrease during the acute phase response. *Atherosclerosis* 1998; 139:307-15.
- (170) Bin Ali A, Zhang Q, Lim YK, Fang D, Retnam L, Lim SK. Expression of major HDL-associated antioxidant PON-1 is gender dependent and regulated during inflammation. *Free Rad Biol Med* 2003; 34:824-9.
- (171) Han CY, Chiba T, Campbell JS, Fausto N, Chaisson M, Orasanu G, Plutzky J, Chait A. Reciprocal and coordinate regulation of serum amyloid A versus apolipoprotein A-I and paraoxonase-1 by inflammation in murine hepatocytes. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2006; 26:1806-13.
- (172) Datta G, Chaddha M, Hama S, Navab M, Fogelman AM, Garber DW, Mishra VK, Epand RM, Epand RF, Lund-Katz S, Phillips MC, Segrest JP, Anantharamaiah GM. Effects of increasing hydrophobicity on the physical-chemical and biological properties of a class A amphipathic helical peptide. *J Lip Res* 2001; 42:1096-104.
- (173) Navab M, Anantharamaiah GM, Reddy St, Hama S, Hough G, Grijalva VR, Wagner AC, Frank JS, Datta G, Garber D, Fogelman AM. Oral D-4F causes formation of pre-beta high-density lipoprotein and improves high-density lipoprotein-mediated cholesterol efflux and reverse cholesterol transport from macrophages in apolipoprotein E-null mice. *Circulation* 2004; 109:3215-20.
- (174) Navab M, Anantharamaiah GM, Reddy ST, Hama S, Hough G, Frank JS, Grijalva VR, Ganesh VK, Mishra VK, Palgunachari MN, Fogelman AM. Oral small peptides render HDL antiinflammatory in mice and monkeys and reduce atherosclerosis in apo E null mice. *Circ Res* 2005; 97:524-32.
-

- (175) Anantharamaiah GM, Mishra VK, Garber DW, Datta G, Handattu SP, Palgunachari MN, Chaddha M, Navab M, Reddy ST, Segrest JP, Fogelman AM. Structural requirements for antioxidative and anti-inflammatory properties of apolipoprotein A-I mimetic peptides. *J Lip Res* 2007; 48:1915-23.
- (176) Van Lenten BJ, Wagner AC, Anantharamaiah GM, Hama S, Reddy ST, Fogelman AM. Lipoprotein inflammatory properties and serum amyloid A levels but not cholesterol levels predict lesion area in cholesterol-fed rabbits. *J Lip Res* 2007; 48:2344-53.
- (177) Navab M, Anantharamaiah GM, Reddy ST, Van Lenten BJ, Buga GM, Fogelman AM. Peptide mimetics of apolipoproteins improve HDL functions. *J Clin Lipidol* 2007; 1:142-7.
- (178) Bloedon LT, Dunbar R, Duffy D, Pinell-Salles P, Norris R, DeGroot BJ, Movva R, Navab M, Fogelman AM, Rader DJ. Safety, pharmacokinetics, and pharmacodynamics of oral apo A-I mimetic peptide D-4F in high risk cardiovascular patients. *J Lip Res* 2008; 49:1344-52.
- (179) Bourquard N, Shih DM, Ng CJ, Villa-García N, Nakamura K, Stoltz DA, Ozer E, Grijalva V, Rozengurt N, Hama SY, Zabner J, Navab M, Fogelman AM, Reddy ST. The role of PON2 and PON3 in atherosclerosis and related traits. In Mackness B, Mackness M, Aviram M, Paragh G, Eds. *The Paraoxonases: Their Role in Disease Development and Xenobiotic Metabolism*. Dordrecht: Springer, 2008.103-28.
- (180) Boright AP, Connelly PW, Brunt JH, Scherer SW, Tsui LC, Hegele RA. Genetic variation in paraoxonase-1 and paraoxonase-2 is associated with variation in plasma lipoproteins in Alberta Hutterites. *Atherosclerosis* 1998; 139:131-6.
- (181) Sanghera DK, Aston CE, Saha N, Kamboh MI. DNA polymorphisms in two paraoxonase genes (PON1 and PON2) are associated with the risk of coronary artery disease. *Am J Hum Genet* 1998; 62:36-44.
- (182) Reddy ST, Wadleigh DJ, Grijalva V, Ng C, Hama S, Gangopadhyay A, Shih DM, Lusis AJ, Navab M, Fogelman AM. Human paraoxonase-3 is an HDL associated-enzyme with biological activity similar to paraoxonase-1 protein but is not regulated by oxidized lipids. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2001; 21:542-7.
- (183) Draganov D, Stetson PL, Watson CE, Billecke S, La Du BN. Rabbit serum paraoxonase 3 (PON3) is a high density lipoprotein-associated lactonase and protects low density lipoprotein against oxidation. *J Biol Chem* 2000; 275:33435-42.
- (184) Teiber JF, Draganov DI, La Du BN. Lactonase and lactonizing activities of human serum paraoxonase (PON1) and rabbit serum PON3. *Biochem Pharmacol* 2003; 66:887-96.
- (185) Ng CJ, Bourquard N, Frijalva V, Hama S, Shih DM, Navab M, Fogelman AM, Lusis AJ, Young S, Reddy ST. Paraoxonase-2 deficiency aggravates atherosclerosis in mice despite lower apolipoprotein-B-containing lipoproteins. Anti-atherogenic role for paraoxonase-2. *J Biol Chem* 2006; 281:29491-500.

- (186) Rosenblat M, Draganov D, Watson CE, Bisgaier CL, La Du BN, Aviram M. Mouse macrophage paraoxonase 2 activity is increased whereas paraoxonase 3 activity is decreased under oxidative stress. *Free Rad Biol Med* 2003; 38:153-63.
- (187) Ng CJ, Shih DM, Hama SY, Villa N, Navab M, Reddy ST. The paraoxonase gene family and atherosclerosis. *Free Rad Biol Med* 2005; 38:153-63.
- (188) Horke S, Witte I, Wilgenbus P, Altenhöfer S, Krüger M, Li H, Förstermann U. Protective effect of paraoxonase-2 against ER stress-induced apoptosis is lost upon disturbance of calcium-homeostasis. *Biochem J* 2008; 416(3):394-405.
- (189) Li HL, Liu DP, Liang CC. Paraoxonase gene polymorphisms, oxidative stress, and diseases. *J Mol Med* 2003; 81:766-79.
- (190) Alves JD, Ames PR. Atherosclerosis, oxidative stress and auto-antibodies in systemic lupus erythematosus and primary antiphospholipid syndrome. *Immunobiology* 2003; 207:23-8.
- (191) Chait A, Han CY, Oram JF, Heinecke JW. Thematic review series: The immune system and atherogenesis. Lipoprotein-associated inflammatory proteins: markers or mediators of cardiovascular disease? *J Lipid Res* 2005; 46:389-403.
- (192) James RW. A long and winding road: defining the biological role and clinical importance of paraoxonases. *Clin Chem Lab Med* 2006; 44:1052-9.
- (193) Can Demirdöğen B, Türkanoglu A, Bek S, Sanisoğlu Y, Demirkaya S, Vural O, Arinç E, Adali O. Paraoxonase/arylesterase ratio, PON1 192Q/R polymorphism and PON1 status are associated with increased risk of ischemic stroke. *Clin Biochem* 2008; 41:1-9.
- (194) Shin BS, Oh SY, Kim YS, Kim KW. The paraoxonase gene polymorphism in stroke patients and lipid profile. *Acta Neurol Scand* 2008; 117:237-43.
- (195) Franco-Pons N, Marsillach J, Joven J, Camps J, Closa D. Serum paraoxonase undergoes inhibition and proteolysis during experimental acute pancreatitis. *J Gastrointest Surg* 2008; 12:891-9.
- (196) Rothem L, Hartman C, Dahan A, Lachter J, Eliakim R, Shamir R. Paraoxonases are associated with intestinal inflammatory diseases and intracellularly localized to the endoplasmic reticulum. *Free Rad Biol Med* 2007; 43:730-9.
- (197) Boehm D, Krzystek-Korpacka M, Neubauer K, Matusiewicz M, Berdowska I, Zielinski B, Paradowski L, Gamian A. Paraoxonase-1 status in Crohn's disease and ulcerative colitis. *Inflamm Bowel Dis* 2009; 15(1):93-9.
- (198) Dirican M, Akca R, Sarandol E, Dilek K. Serum paraoxonase activity in uremic predialysis and hemodialysis patients. *J Nephrol* 2004; 17:813-8.

- (199) Kalogerakis G, Baker AM, Christov S, Rowley KG, Dwyer K, Winterbourn C, Best JD, Jenkins AJ. Oxidative stress and high-density lipoprotein function in Type I diabetes and end-stage renal disease. *Clin Sci (Lond)* 2005; 108:497-506.
- (200) Marsillach J, Martínez-Vea A, Marcas L, Mackness B, Mackness M, Ferré N, Joven J, Camps J. Administration of exogenous erythropoietin beta affects lipid peroxidation and serum paraoxonase-1 activity and concentration in predialysis patients with chronic renal disease and anaemia. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2007; 34:347-9.
- (201) Landers JE, Shi L, Cho TJ, Glass JD, Shaw CE, Nigel Leigh P, Diekstra F, Polak M, Rodriguez-Leyva I, Niemann S, Traynor BJ, McKenna-Yasek D, Sapp PC, Al Chalabi A, Wills AM, Brown RH Jr. A common haplotype within the PON1 promoter region is associated with sporadic ALS. *Amyotroph Lateral Scler* 2008; 10:1-9.
- (202) Valdmanis PN, Kabashi E, Dyck A, Hince P, Lee J, Dion P, D'Amour M, Souchon F, Bouchard JP, Salachas F, Meininger V, Andersen PM, Camu W, Dupré N, Rouleau GA. Association of paraoxonase gene cluster polymorphisms with ALS in France, Quebec, and Sweden. *Neurology* 2008; 71:514-20.
- (203) Tripi LM, Manzi S, Chen Q, Kenney M, Shaw P, Kao A, Bontempo F, Kammerer C, Kamboh MI. Relationship of serum paraoxonase 1 activity and paraoxonase 1 genotype to risk of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 2006; 54:1928-39.
- (204) Kiss E, Seres I, Tarr T, Kocsis Z, Szegedi G, Paragh G. Reduced paraoxonase 1 activity is a risk for atherosclerosis in patients with systemic lupus erythematosus. *Ann N Y Acad Sci* 2007; 1108:83-91.
- (205) Stevens VL, Rodriguez C, Pavluck AL, Thun MJ, Calle EE. Association of polymorphisms in the paraoxonase 1 gene with breast cancer incidence in the CPS-II Nutrition Cohort. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2006; 15:1226-8.
- (206) Stevens VL, Rodriguez C, Talbot JT, Pavluck AL, Thun MJ, Calle EE. Paraoxonase 1 (PON1) polymorphisms and prostate cancer in the CPS-II Nutrition Cohort. *Prostate* 2008; 68:1336-40.
- (207) Elkiran ET, Mar N, Aygen B, Gursu F, Karaoglu A, Koca S. Serum paraoxonase and arylesterase activities in patients with lung cancer in a Turkish population. *BMC Cancer* 2007; 7:48.
- (208) Padungtod C, Niu T, Wang Z, Savitz DA, Christiani DC, Ryan LM, Xu X. Paraoxonase polymorphism and its effect on male reproductive outcomes among Chinese pesticide factory workers. *Am J Ind Med* 1999; 36:379-87.
- (209) Pérez-Herrera N, Polanco-Minaya H, Salazar-Arredondo E, Solís-Heredia MJ, Hernández-Ochoa I, Rojas-García E, Alvarado-Mejía J, Borja-Aburto VH, Quintanilla-Vega B. PON1Q192R genetic polymorphism modifies organophosphorous pesticide effects on semen quality and DNA integrity in agricultural workers from southern Mexico. *Toxicol Appl Pharmacol* 2008; 230:261-8.

- (210) Ozer EA, Pezzulo A, Shih DM, Chun C, Furlong C, Lusis AJ, Greenberg EP, Zabner J. Human and murine paraoxonase 1 are host modulators of *Pseudomonas aeruginosa* quorum-sensing. FEMS Microbiol Lett 2005; 253:29-37.
- (211) Stoltz DA, Ozer EA, Taft PJ, Barry M, Liu L, Kiss PJ, Moninger TO, Parsek MR, Zabner J. Drosophila are protected from *Pseudomonas aeruginosa* lethality by transgenic expression of paraoxonase-1. J Clin Invest 2008; 118(9):3123-31.
- (212) Aslan M, Nazligul Y, Horoz M, Bolukbas C, Bolukbas FF, Gur M, Celik H, Erel O. Serum paraoxonase-1 activity in *Helicobacter pylori* infected subjects. Atherosclerosis. 2008; 196:270-4.
- (213) Donlan RM. Biofilms and Device-Associated Infections. Emerg Infect Dis 2001; 7(2):277-81.
- (214) Mack D, Davies AP, Harris LG, Rohde H, Horstkotte MA, Knobloch JK. Microbial interactions in *Staphylococcus epidermidis* biofilms. Anal Bioanal Chem 2007; 387: 399–408.
- (215) Koseki H, Yonekura A, Shida T, Yoda I, Horiuchi H, Morinaga Y, Yanagihara K, Sakoda H, Osaki M, Tomita M. Early Staphylococcal Biofilm Formation on Solid Orthopaedic Implant Materials: *In Vitro* Study. PLoS ONE 2014; 9(10): e107588. doi:10.1371/journal.pone.0107588.
- (216) Shikh-Bardsiri H, Shakibaie MR. Antibiotic resistance pattern among biofilm producing and non producing *Proteus* strains isolated from hospitalized patients; matter of hospital hygiene and antimicrobial stewardship. Pak J Biol Sci 2013; 16(22):1496-502.
- (217) Wang Z, Shen Y, Haapasalo M. Dental materials with antibiofilm properties. Dent Mater 2014; 30(2):e1-16.
- (218) Gottrup F, Apelqvist J, Bjarnsholt T, Cooper R, Moore Z, Peters EJ, Probst S. Antimicrobials and Non-Healing Wounds. Evidence, controversies and suggestions-key messages. J Wound Care 2014; 23(10):477-82.
- (219) Costerton JW, Lew Andowski z, Caldwell DE, Korber DR, Lappin-Scott HM. Microbial biofilms. Annu Rev Microbiol 1995; 49:711-45.
- (220) Aparna MS, Yadav S. Biofilms: Microbes and disease. Braz J Infect Dis 2008; 12:526-30.
- (221) Hall-Stoodley L, Stoodley P. Evolving concepts in biofilm infections. Cell Microbiol 2009; 11:1034-43.
- (222) Mah TFC, O'Toole GA. Mechanisms of biofilm resistance to antimicrobial agents. Trends Microbiol 2001; 9(1):34-9.
- (223) Camps J, Pujol I, Ballester F, Joven J, Simó JM. Paraoxonases as potential anti-biofilm agents: Their relationship with quorum sensing signals in Gram-negative bacteria. Antimicrob agents chemother 2011; 1325-31.

- (224) Müh U, Hare BJ, Duerkop BA, Schuster M, Hanzelka BL, Heim R, Olson ER, Greenberg EP. A structurally unrelated mimic of a *Pseudomonas aeruginosa* acyl-homoserine lactone quorum-sensing signal. Proc Natl Acad Sci USA 2006; 103:15948-16952.
- (225) Teughels W, Van Assche N, Sliepen I, Quirynen M. (2006) Effect of material characteristics and/or surface topography on biofilm development. Clin Oral Implants Res 2006 ; 17:268–81.
- (226) Passerini L, Lam K, Costerton JW, King EG. Biofilms on indwelling vascular catheters. Crit Care Med 1992; 20(5):665–73.
- (227) Stickler DJ. Bacterial biofilms and the encrustation of urethral catheters. Biofouling 1996; 94:293-305.
- (228) Tejedor SC, Tong D, Stein J, Payne C, Dressler D, Xue W, Steinberg JP. Temporary central venous catheter utilization patterns in a large tertiary care centre: tracking the “idle central venous catheter”. Infect Control Hosp Epidemiol 2012; 33(1):50–7.
- (229) Raina S, De Vizio D, Odell M, Clements M, Vanhuelle S, Keshavarz T. Microbial quorum sensing: a tool or a target for antimicrobial therapy? Biotechnol Appl Biochem 2009; 54:65-84.
- (230) Dong YH, Wang LH, Zhang LH. Quorum-quenching microbial infections: mechanisms and implications. Phil Trans R Soc B 2007; 362:1201-11.
- (231) Shang Z, Wang H, Zhou S, Chu W. Characterization of N-Acyl-homoserine Lactones (AHLs)-Deficient Clinical Isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. Indian J Microbiol 2014; 54(2):158-62.
- (232) Papaioannou E, Utari PD, Quax WJ. Choosing an Appropriate Infection Model to Study Quorum Sensing Inhibition in *Pseudomonas* Infections. Int J Mol Sci 2013; 14(9):19309-40.
- (233) Dong YH, Xu JL, Li XZ, Zhang LH. AiiA, an enzyme that inactivates the acylhomoserine lactone quorum-sensing signal and attenuates the virulence of *Erwinia carotovora*. Proc Natl Acad Sci USA 2000; 97:3526–31.
- (234) Cao Y, He S, Zhou Z, Zhang M, Mao W, Zhang H, Yao B. Orally administered thermostable N-acyl homoserine lactonase from *Bacillus* sp. strain AI96 attenuates *Aeromonas hydrophila* infection in zebrafish. Appl Environ Microbiol 2012; 78:1899–908.
- (235) Kiran S, Sharma P, Harjai K, Capalash N. Enzymatic quorum quenching increases antibiotic susceptibility of multidrug resistant *Pseudomonas aeruginosa*. Iran J Microbiol 2011; 3(1):1-12.
- (236) Ghani NA, Norizan SN, Chan XY, Yin WF, Chan KG. *Labrenzia* sp. BM1: a quorum quenching bacterium that degrades N-acyl homoserine lactones via lactonase activity. Sensors 2014; 14(7):11760-9.

- (237) Erdös EG, Boggs LE. Hydrolysis of paraoxon in mammalian blood. *Nature* 1961; 190:716.
- (238) Mackness MI. Why plasma should not be used to study paraoxonase. *Atherosclerosis* 1998; 136:195-6.
- (239) Mackness MI. Human paraoxonase is inhibited in EDTA plasma. *Biochem Biophys Res Commun* 1998; 242(2):249.
- (240) Aldridge WN. 'A'-esterases and 'B'-esterases in perspective. In Reiner E, Aldridge WN, Hoskin FCG, Eds. *Enzymes hydrolysing organophosphorous compounds*. Pp 1-14. Chichester: Ellis Horwood, 1989.
- (241) Jarvik GP, Tsai NT, McKinstry LA, Wani R, Brophy VH, Richter RJ Schellenberg GD, Heagerty PJ, Hatsukami TS, Furlong CE. Vitamin C and E intake is associated with increased paraoxonase activity. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2002; 22:1329-33.
- (242) Martín-Campos JM, Julve J, Escolà JC, Ordóñez-Llanos J, Gómez J, Binimelis J, González-Sastre F, Blanco-Vaca F. Apo A-IMALLORCA impairs LCAT activation and induces dominant familial hypoalphalipoproteinemia. *J Lip Res* 2002; 43:115-23.
- (243) Richter RJ, Jampsa RL, Jarvik GP, Costa LG, Furlong CE. Determination of paraoxonase 1 status and genotypes at specific polymorphic sites. In Maines M, Costa LG, Reed DJ, Hodgson E, Eds. *Current Protocols in Toxicology* Pp 4.12.1-4.12.19. New York: John Wiley and Sons, 2004.
- (244) Haagen L, Brock A. A new automated method for phenotyping arylesterase (EC 3.1.12) based upon inhibition of enzymatic hydrolysis of 4-nitrophenyl acetate by phenyl acetate. *Eur J Clin Chem Clin Biochem* 1992; 30:391-5.
- (245) Kawai H, Sakamoto F, Inoue Y. Improved specific assay for serum arylesterase using a water-soluble substrate. *Clin Chim Acta* 1990; 188:177-82.
- (246) Furlong CE, Richter RJ, Seidel SL, Costa LG, Motulsky AG. Spectrophotometric assays for the enzymatic hydrolysis of the active metabolites of chlorpyrifos and parathion by plasma paraoxonase/arylesterase. *Anal Biochem* 1989; 180:242-7.
- (247) Davies HG, Richter RJ, Keifer M, Broomfield CA, Sowalla J, Furlong CR. The effect of the human serum paraoxonase polymorphism is reversed with diazoxon, soman and sarin. *Nature Genet* 1996; 14:334-6.
- (248) Li WF, Costa LG, Richter RJ, Hagen T, Shih DM, Tward A, Lusi AJ, Furlong CE. Catalytic efficiency determines the in-vivo efficacy of PON1 for detoxifying organophosphorous compounds. *Pharmacogenetics* 2000; 10:767-79.
- (249) Cole TB, Walter BJ, Shih DM, Tward AD, Lusi AJ, Timchalk C, Richter RJ, Costa LG, Furlong CE. Toxicity of chlorpyrifos and chlorpyrifos oxon in a transgenic mouse model of the human paraoxonase (PON1) Q192R polymorphism. *Pharmacogenet Genom* 2005; 15:589-98.

- (250) Jakubowski H. Calcium-dependent human serum homocysteine thiolactone hydrolase. A protective mechanism against protein N-homocysteinylation. *J Biol Chem* 2000; 275:3957-62.
- (251) Khersonsky O, Tawfik DS. Chromogenic and fluorogenic assays for the lactonase activity of serum paraoxonases. *Chem Bio Chem* 2006; 7:49-53.
- (252) Gaidukov L, Tawfik DS. The development of human sera tests for HDL-bound serum PON1 and its lipolactonase activity. *J Lip Res* 2007; 48:1637-46.
- (253) Gaidukov L, Rosenblat M, Aviram M, Tawfik DS. The 192R/Q polymorphs of serum paraoxonase PON1 differ in HDL binding, lipolactonase stimulation, and cholesterol efflux. *J Lip Res* 2006; 47:2492-502.
- (254) Kawai H, Yomoda S, Inoue I. ELISA using monoclonal antibody to human serum arylesterase. *Clin Chim Acta* 1991; 202:219-26.
- (255) Blatter MC, James RW, Messmer S, Barja F, Pometta D. Identification of a distinct human high-density lipoprotein subspecies defined by a lipoprotein-associated protein, K-45. Identity of K-45 with paraoxonase. *Eur J Biochem* 1993; 211:871-9.
- (256) Blatter-Garin MC, Abbott C, Messmer S, Mackness M, Durrington P, Pometta D, James RW. Quantification of human serum paraoxonase by enzyme-linked immunoassay: population differences in protein concentrations. *Biochem J* 1994; 304: 549-54.
- (257) Mackness B, Hunt R, Durrington PN, Mackness MI. Increased immunolocalization of paraoxonase, clusterin, and apolipoprotein A-I in the human artery wall with the progression of atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997; 17:1233-8.
- (258) Ferré N, Marsillach J, Camps J, Mackness B, Mackness M, Riu F, Coll B, Tous M, Joven J. Paraoxonase-1 is associated with oxidative stress, fibrosis and FAS expression in chronic liver diseases. *J Hepatol* 2006; 45:51-9.
- (259) James RW, Blatter-Garin MC, Calabresi L, Miccoli R, Von Eckardstein A, Tilly-Kiesi M, Taskinen MR, Assmann G, Franceschini G. Modulated serum activities and concentrations of paraoxonase in high density lipoprotein deficiency states. *Atherosclerosis* 1998; 139:77-82.
- (260) Deakin SP, James RW. Genetic and environmental factors modulating serum concentrations and activities of the antioxidant enzyme paraoxonase-1. *Clin Sci (Lond)* 2004; 107:425-47.
- (261) Schuetz P, Christ-Crain M, Müller B. Biomarkers to improve diagnostic and prognostic accuracy in systemic infections. *Curr Opin Crit Care* 2007; 13:578-85.
- (262) Reinhart K, Meisner M, Brunkhorst FM. Markers for sepsis diagnosis. What is useful? *Crit Care Clin* 2006; 22:503-19.

- (263) Marshal JC, Reinhart K, International sepsis forum. Biomarkers of sepsis. *Crit Care Med* 2009; 37:2290-8.
- (264) Atkinson AJ, Colburn WA, DeGruttola VG, DeMets DL, Downing GJ, Hoth DF, Oates JA, Peck CC, Schooley RT, Spilker BA. Biomarkers and surrogate endpoints: preferred definitions and conceptual framework. *Clin Pharmacol Ther* 2001; 69:89-95.
- (265) Torrabadella de Reynoso P, Pérez-Moltó H. La proteína C reactiva en los tiempos de la medicina molecular. *Med Clin* 2005; 125:775-7.
- (266) Gabay C, Kushner I. Acute-phase proteins and other systemic responses to inflammation. *N Engl J Med* 1999; 340:448-54.
- (267) Muller B, Becker KL, Schachinger H, Rickenbacher PR, Huber PR, Zimmerli W, Ritz R. Calcitonin precursor are reliable markers of sepsis in a medical intensive care unit. *Crit Care Med* 2000; 28:977-83.
- (268) Brunkhorst FM, Heinz U, Forycki ZF. Kinetics of procalcitonin in iatrogenic sepsis. *Intensive Care Med* 1998; 24:888-9.
- (269) Dandona P, Nix D, Wilson MF, Aljada A, Love J, Assicot M, Bohuon C. Procalcitonin increase alters endotoxin infection in normal subjects. *J Clin Endocrinol Metab* 1994; 79:1605-8.
- (270) Tang H, Huang T, Jing J, Shen H, Cui W. Effect of procalcitonin-guided treatment in patients with infections: a systematic review and meta-analysis. *Infection* 2009; 37(6):497-507.
- (271) Jones AE, Fiechtl JF, Brown MD, Ballew JJ, Kline JA. Procalcitonin test in the diagnosis of bacteremia: a meta-analysis. *Ann Emerg Med* 2007; 50(1):34-41.
- (272) Becker KL, Snider R, Nylen ES. Procalcitonin in sepsis and systemic inflammation: a harmful biomarker and a therapeutic target. *Br J Pharmacol* 2010; 159(2):253-64.
- (273) Rey C, Los Arcos M, Concha A, Medina A, Prieto S, Martínez P, Prieto B. Procalcitonin and C-reactive protein as markers of systemic inflammatory response syndrome severity in critically ill children. *Intensive Care Med* 2007; 33:477-84.
- (274) Simon L, Gauvin F, Amre DK, Saint-Louis P, Lacroix J. Serum procalcitonin and C-reactive protein levels as markers of bacterial infection: A systematic review and meta-analysis. *Clin Infect Dis* 2004; 39:206-17.
- (275) Gendrel D, Raymond J, Coste J, Moulin F, Lorrot M, Guérin S, Ravilly S, Lefèvre H, Royer C, Lacombe C, Palmer P, Bohuon C. Comparison of procalcitonin with C-reactive protein, interleukin 6 and interferon-alpha for differentiation of bacterial vs. viral infections. *Pediatr Infect Dis J* 1999; 18(10):875-81.

- (276) Christ-Crain M, Muller B. Biomarkers in respiratory tract infections: diagnostic guides to antibiotic prescription, prognostic markers and mediators. *EurRespir J* 2007; 30(3):556-73.
- (277) Meisner M, Tschaikowsky K, Hutzler A, Schick C, Schüttler J. Postoperative plasma concentrations of procalcitonin after different types of surgery. *Intensive Care Med* 1998; 24:680-4.
- (278) Franke A, Lante W, Kupser S, Becker HP, Weinhold C, Markewitz A. Procalcitonin levels after different types of conventional thoracic surgery. *Thorac Cardiovasc Surg* 2008; 56:46-50.
- (279) Luyt CE, Guerin V, Combes A, Trouillet JL, Ayed SB, Bernard M, Gibert C, Chastre J. Procalcitonin kinetics as a prognostic marker of ventilator-associated pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med* 2005; 171(1):48-53.
- (280) Ullman TA, Itzkowitz SH. Intestinal inflammation and cancer. *Gastroenterology* 2011; 140:1807-16.
- (281) Schuttrumpf S, Binder L, Hagemann T, Berkovic D, Trumper L, Binder C. Utility of procalcitonin concentration in the evaluation of patients with malignant diseases and elevated C-reactive protein plasma concentrations. *Clin Infect Dis* 2006; 43:468-73.
- (282) Morgenthaler NG, Struck J, Fischer-Schulz Ch, Bergmann A. Sensitive Immunoluminometric Assay for the detection of Procalcitonin (Department BRAHMS AG, Biotechnology Centre). *Clin Chem* 2002; 28:788-9.
- (283) Kuse E, Langefeld I, Jaeger K. Procalcitonin in fever of unknown origin after liver transplantation: A variable to differentiate acute rejection from infection. *Crit Care Med* 2000; 28:555-9.
- (284) Tromp M, Lansdorp B, Bleeker-Rovers CP, Gunnewiek JMK, Kullberg BJ, Pickkers P. Serial and panel analyses of biomarkers do not improve the prediction of bacteremia compared to one procalcitonin measurement. *J Infect* 2012; 65:292-301.
- (285) Ratzinger F, Schuardt M, Eichbichler K, Tsirkinidou I, Bauer M, Helmuth Haslacher H, Mitteregger D, Binder M, Heinz Burgmann H. Utility of Sepsis Biomarkers and the Infection Probability Score to Discriminate Sepsis and Systemic Inflammatory Response Syndrome in Standard Care Patients. *PLoS ONE* 2013; 8(12): e82946. doi:10.1371/journal.pone.
- (286) Müller F, Christ-Crain M, Bregenzer T, Krause M, Zimmerli W, Mueller B, Schuetz P, ProHOSP Study Group Chest. Procalcitonin levels predict bacteremia in patients with community-acquired pneumonia: a prospective cohort trial. *Chest* 2010; 138(1):121-9.
- (287) Theodorou VP, Papaioannou VE, Tripsianis GA, et al. Procalcitonin and procalcitonin kinetics for diagnosis and prognosis of intravascular catheter related bloodstream infections in selected critically ill patients: a prospective observational study. *BMC Infectious Diseases* 2012; 12:247.

(288) van Nieuwkoop, C., Bonten, T. N., van'tWout, J. W., Kuijper EJ, Groeneveld GH, Becker MJ, Koster T, Wattel-Louis GH, Delfos NM, Ablij HC, Leyten EM, van Dissel JT. Procalcitonin reflects bacteremia and bacterial load in urosepsis syndrome: a prospective observational study. *Critical Care* 2010; 14(6).

(289) Bilir F, Akdemir N, Ozden S, Cevrioglu AS, Bilir C. Increased serum procalcitonin levels in pregnant patients with asymptomatic bacteriuria. *Ann Clin Microbiol Antimicrob* 2013; 12:25.

(290) Mermel LA. What is the predominant source of intravascular catheter infections? *Clin Infect Dis* 2011; 52(2):211–2.

(291) Maki DG, Kluger DM, Crnich CJ. The risk of bloodstream infection in adults with different intravascular devices: A systematic review of 200 published prospective studies. *Mayo Clin Proc* 2006; 81(9):1159–71.

(292) World Health Organization. Report on the Endemic Burden of Health Care–Associated Infection Worldwide; A Systematic Review of the Literature. Allegranzi B, et al. 2011. [consultado 19-01-2014]. Disponible en:
http://whqlibdoc.who.int/publications/2011/978924_1501507_eng.pdf.

(293) Burke JP. Infection control - a problem for patient safety. *N Engl J Med* 2003; 348(7):651–6.

(294) US Centers for Disease Control and Prevention, National Healthcare Safety Network. Device-Associated (DA) Module: Protocol and Instructions: Central Line–Associated Bloodstream Infection (CLABSI) Event. 2012. [consultado 12-01-2014]. Disponible en: http://www.cdc.gov/nhsn/PDFs/pscManual/4PSC_CLABSCurrent.pdf.

(295) Mermel LA, Allon M, Bouza E, Craven DE, Flynn P, O'Grady NP, Raad II, Rijnders BJ, Sherertz RJ, Warren DK. Clinical practice guidelines for the diagnosis and management of intravascular catheter-related infection: 2009 Update by the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis* 2009; 49(1):1-45.

(296) O'Grady NP, Alexander M, Dellinger EP, Gerberding JL, Heard SO, Maki DG, Masur H, McCormick RD, Mermel LA, Pearson ML, Issam I. Raad II, Randolph A, Weinstein RA. Guidelines for the prevention of intravascular catheter-related infections. *Clin infect dis* 2002; 35(11):1281-307.

(297) The Joint Commission. Preventing Central Line–Associated Bloodstream Infections: A Global Challenge, a Global Perspective. Oak Brook, IL: Joint Commission Resources; 2012. [consultado 12-01-2014]. Disponible en: <http://www.PreventingCLABSI.pdf>.

(298) Procedimientos en microbiología clínica. Recomendaciones de la sociedad española de enfermedades infecciosas y microbiología clínica. Diagnóstico microbiológico de las infecciones asociadas a catéteres intravasculares. 2004. [consultado 12-01-2014]. Disponible en:
<http://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia15.pdf>

- (299) Sociedad Española de Medicina Preventiva, Salud Pública e Higiene. Estudio EPINE –EPPS 2013. [consultado 22-04-2014]. Disponible en: <http://hws.vhebron.net/epine/Descargas/EPINE-EPPS2013%20Informe%20Global%20de%20España%20Resumen.pdf>.
- (300) Programa de Vigilancia de les Infeccions Nosocomials als Hospitals de Catalunya (Programa VINCat). Informe 2012. [consultado 22-04-2014]. Disponible en: <http://www20.gencat.cat/docs/canalsalut/Minisite/VINCat/Documents/Informes/Informe2012agutsv1.pdf>.
- (301) Prevenció de la infecció relacionada amb el cateterisme intravascular. 2012. Generalitat de Catalunya. Departament de Salut. [consultado 22-04-2014]. Disponible en: http://www20.gencat.cat/docs/canalsalut/Minisite/VINCat/Documents/objectiu%20W EB_Cateterisme_AMB%20LINKS6.pdf.
- (302) Raad I, Hanna H, Maki D. Intravascular catheter-related infections: advances in diagnosis, prevention, and management. *Lancet Infect Dis* 2007; 7:645-57.
- (303) Zingg W, Cartier-Fassler V, Walder B. Central venous catheter-associated infections. *Best Pract Res Clin Anaesthesiol* 2008; 22(3):407–21.
- (304) Maki DG, Weise CE, Sarafin HW. A semiquantitative culture method for identifying intravenous catheter related infection. *N Eng J Med* 1977; 296(23):1305-9.
- (305) Liñares J, Sitges-Serra A, Garau J, Pérez JL, Martín R. Pathogenesis of catheter sepsis: a prospective study using quantitative and semiquantitative cultures of catheter hub and segments. *J Clin Microbiol* 1985; 21:357-60.
- (306) O’Grady NP, Alexander M, Burns LA, Dellinger EP, Garland J, Heard SO, Lipsett PA, Masur H, Mermel LA, Pearson ML, Raad II, Randolph AG, Rupp ME, Saint S; Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee (HICPAC). Guidelines for the prevention of intravascular catheter-related infections. *Clin Infect Dis* 2011; 52(9):162–93.
- (307) Crnich CJ, Maki DG. The promise of novel technology for the prevention of intravascular device-related bloodstream infection. I. Pathogenesis and short-term devices. *Clin Infect Dis*; 34(9):1232–42.
- (308) Ryder M. Evidence-based practice in the management of vascular access devices for home parenteral nutrition therapy. *JPEN J Parenter Enteral Nutr* 2006; 30(1Suppl):S82–93, S98–9.
- (309) Hooton TM, Bradley SF, Cardenas DD, Colgan R, Geerlings SE, Rice JC, Saint S, Schaeffer AJ, Tambayh PA, Tenke P, and Nicolle LE. Diagnosis, prevention, and treatment of catheter-associated urinary tract infection in adults: 2009 International Clinical Practice Guidelines from the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis* 2010; 50:625–63.

(310) Nicolle LE. Urinary catheter-associated infections. *Infect Dis Clin North Am* 2012; 26:13-27.

(311) Pigrau C, Rodriguez D. Infecciones asociadas a dispositivos para drenaje de las vías urinarias. *Enf Infecc Microbiol Clin* 2008; 26:299-310.

(312) Sociedad Española de Medicina Preventiva, Salud pública e Higiene. Estudio de prevalencia de las infecciones nosocomiales en España. EPINE 1990-2011 [consultado 23-03-2014]. Disponible en:
http://www.sempsph.com/images/stories/recursos/pdf/protocolos/2012/378_9-epine_1990-2011.pdf.

(313) Pigrau C. Infecciones del tracto urinario nosocomiales. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2013; 31:614-24.

(314) Klevens RM, Edwards JR, Richards CL Jr, Horan TC, Gaynes RP, Pollock DA, Cardo DM. Estimating health care-associated infections and deaths in U.S. hospitals, 2002. *Public Health Rep* 2007; 122:160–6.

(315) Chenoweth CE, Saint S. Urinary tract infections. En Jarvis W.R.(ed.): Bennett & Brachman's Hospital Infections, 5th ed. Philadelphia: Wolters Kluwer/Lippincott Williams & Wilkins, 2007; 507–16.

(316) Saint S, Wiese J, Amory JK, Bernstein ML, Patel UD, Zemencuk JK, Bernstein SJ, Lipsky BA, Hofer TP. Are physicians aware of which of their patients have indwelling urinary catheters? *Am J Med* 2000; 109:476–80.

(317) Rodríguez-Baño J, Navarro MD, Romero L, Muniain MA, Cueto M, Gálvez J, Perea EJ, Pascual A. Risk-factors for emerging bloodstream infections caused by extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli*. *Clin Microbiol Infect* 2008; 14:180-3.

(318) Kusek L, Mooney MC, O'Boyle C, Podgorny K, Reis P, Soule B. Urinary catheterization from medical necessity to medical harm. En: Chopp Hinckley C. Clinical Care Improvement Strategies: Preventing Catheter-Associated Urinary Tract Infections. The Joint Commission. Oakbrook Terrace, IL: Joint Commission Resources, 2011; 1-31.

(319) Carr HA. Urinary tract infection. In Carrico R., et al. (ed.): APIC Text of Infection Control and Epidemiology, 3rd ed., vol 1. Washington, DC: Association for Professionals in Infection Control and Epidemiology, 2009; 25:1-12.

(320) Horan TC, Andrus M, Dudeck MA. CDC/NHSN surveillance definition of health care-associated infection and criteria for specific types of infections in the acute care setting. *Am J Infect Control* 2008; 36:309–32.

(321) Pigrau C. Infección del tracto urinario. Protocolos clínicos SEIMC (sociedad española de enfermedades infecciosas y microbiología) 2013. [consultado 23-05-2014]. Disponible en:
<http://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/otrosdeinteres/seimc-dc2013-LibroInfecciondeltractoUrinario.pdf>.

- (322) Martinez MA, Mensa J. Infección urinaria en la comunidad asociada a catéteres urinarios. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2005; 23:57-66.
- (323) Gould CV, Umscheid CA, Agarwal RK, Kuntz G, Pegues DA, and the Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee (HICPAC). Centers for Disease Control and Prevention: Catheter-Associated Urinary Tract Infection (CAUTI) 2009. [consultado 23-05-2014]. Disponible en: <http://www.cdc.gov/nhsn/pdfs/pscManual/7pscCAUTICurrent.pdf>.
- (324) Sociedad Española de Medicina Preventiva, Salud pública e Higiene. Estudio de prevalencia de las infecciones nosocomiales en España. EPINE 2013 [consultado 23 Marzo 2014]. Disponible en: <http://hws.vhebron.net/epine/Descargas/EPINE-EPPS2013%20Informe%20Global%20de%20España%20Resumen.pdf>.
- (325) Edwards JR, Peterson KD, Mu Y, Banerjee S, Allen-Bridson K, Morrell G, Dudeck MA, Pollock DA, Horan TC. National Healthcare Safety Network (NHSN) report: data summary for 2006 through 2008, issued December 2009. *Am J Infect Control* 2009; 37:783-805.
- (326) Daifuku R, Stamm WE. Bacterial adherence to bladder uroepithelial cells in catheter-associated urinary tract infection. *N Engl J Med* 1986; 314:1208-13.
- (327) Hartstein AI, Garber SB, Ward TT, Jones SR, Morthland VH. Nosocomial urinary tract infection: a prospective evaluation of 108 catheterized patients. *Infect Control* 1981; 2:380-6.
- (328) Cohen A. A microbiological comparison of a povidone-iodine lubricating gel and a control as catheter lubricants. *J Hosp Infect* 1985; 6(Suppl A):155-61.
- (329) Tambay PA, Halvorson KT, Maki DG. A prospective study of pathogenesis of catheter-associated urinary tract infections. *Mayo Clin Proc* 1999; 74:131-6.
- (330) Trautner B, Hull R, Darouiche R. Prevention of catheter-associated urinary tract infection. *Curr Op Infect Dis* 2005; 18:37-41.
- (331) Sabbuba NA, Mahenthiralingham E, Sickler DJ. Molecular epidemiology of *Proteus mirabilis* infections of the catheterised urinary tract. *J Clin Microbiol* 2003; 41:4961-5.
- (332) Warren JW. Catheter-associated urinary tract infections. *Infect Dis Clin North Am* 1997; 11:609-22.
- (333) Stark RP, Maki DG. Bacteriuria in the catheterized patient: what quantitative level of bacteriuria is relevant? *N Engl J Med* 1984; 311:560-4.
- (334) The prevention and management of urinary tract infections among people with spinal cord injuries. National Institute on Disability and Rehabilitation Research Consensus Statement. *J Am Paraplegia Soc* 1992; 15:194-204.

- (335) Berkman LF, Leo-Summers L, Horwitz RI. Emotional support and survival after myocardial infarction. A prospective, population-based study of the elderly. *Ann Intern Med* 1992; 117:1003-9.
- (336) McCabe WR, Jackson GG. Gram-negative bacteremia. I. Etiology and ecology. *Arch Intern Med* 1962; 110:847-64.
- (337) The Joint Commission. Clinical Care Improvement Strategies: Preventing Catheter-Associated Urinary Tract Infections. The Joint Commission. Oakbrook Terrace, IL: The Joint Commission Resources, 2011.
- (338) Díaz-Pedroche C, Salavert M, Aguado JM, Jarque I, Lizasoain M, Sanz MA. Evaluación individualizada del riesgo de infecciones en el paciente oncohematológico. *Rev Esp Quimioterap* 2006; 19:117-29.
- (339) Ferré N, Camps J, Prats E, Vilella E, Paul A, Figuera L, et al. Serum paraoxonase activity: a new additional test for the improved evaluation of chronic liver damage. *Clin Chem* 2002; 48(2):261-8.
- (340) Gaidukov L, Tawfik D. The development of human sera tests for HDL-bound serum PON1 and its lipolactonase activity. *J Lipid Res* 2007; 48(7):1637-46.
- (341) Marsillach J, Aragonès G, Beltrán R, Caballeria J, Pedro-Botet J, Morcillo-Suárez C, et al. The measurement of the lactonase activity of paraoxonase-1 in the clinical evaluation of patients with chronic liver impairment. *Clin Biochem* 2009; 42(1-2):91-8.
- (342) Marsillach J, Mackness B, Mackness M, Riu F, Beltrán R, Joven J, et al. Immunochemical analysis of paraoxonases-1, 2, and 3 expression in normal mouse tissues. *Free Radic Biol Med* 2008; 45(2):146-57.
- (343) Martinelli N, Garcia-Heredia A, Roca H, Aranda N, Arija V, Mackness B, et al. Paraoxonase-1 status in patients with hereditary hemochromatosis. *J Lipid Res* 2013; 54(5):1484-92.
- (344) Andreu A, Cacho J, Coira A, Lepe JA. Diagnóstico microbiológico de las infecciones del tracto urinario. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2011; 29(1):52-7.
- (345) Bouza E, Liñares J, Pascual A. Diagnóstico microbiológico de las infecciones asociadas a catéteres intravasculares 2004. [consultado 18-08-2014]. Disponible en: <http://www.seimc.org/documentos/protocolos/microbiologia/>.
- (346) Zweig MH, Campbell G. Receiver-operating characteristic (ROC) plots: a fundamental evaluation tool in clinical medicine. *Clin Chem* 1993; 39(4):561-77.
- (347) Hanley JA, McNeil BJ. The meaning and use of the area under a Receiver Operating Characteristic (ROC) curve. *Radiology* 1982; 143:29-36.
- (348) Simon D, Boring JR III. Sensitivity, Specificity, and Predictive Value. In: Walker HK, Hall WD, Hurst JW. *Clinical Methods: The History, Physical, and Laboratory Examinations*. 3rd edition. Boston: Butterworths; 1990. 49-54.
- (349) Galley AF. Oxidative stress and mitochondrial dysfunction in sepsis. *Br J Anaesth* 2011; 107:57-64.
-

- (350) Schwarz B. Oxidative stress during viral infection: A review. *Free Rad Biol Med* 1996; 21: 641-9.
- (351) Nakamura H, Masutani H, Yodoi J. Redox imbalance and its control in HIV infection. *Antioxid Redox Signal* 2002; 4:455-64.
- (352) Goode HF, Cowley HC, Walker BE, Howdle PD, Webster NR. Decreased antioxidant status and increased lipid peroxidation in patients with septic shock and secondary organ dysfunction. *Crit Care Med* 1995; 23:646-51.
- (353) Hamed SA, Hamed EA, Zakary MM. Oxidative stress and S-100B protein in children with bacterial meningitis. *BMC Neurol* 2009; 9:51.
- (354) Zhou JF, Xiao WQ, Zheng YC, Dong J, Zhang SM. Increased oxidative stress and oxidative damage associated with chronic bacterial prostatitis. *Asian J Androl* 2006; 8(3):317-23.
- (355) Fraud S, Poole K. Oxidative Stress Induction of the MexXY Multidrug Efflux Genes and Promotion of Aminoglycoside Resistance Development in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother* 2011; 55(3):1068.
- (356) Schmidt Grant S, Hung DT. Persistent bacterial infections, antibiotic tolerance, and the oxidative stress response. *Virulence* 2013; 4(4):273–83.
- (357) Li CQ, Pignatelli B, Ohshima H. Increased Oxidative and Nitritative Stress in Human Stomach Associated with cagA+ *Helicobacter pylori* Infection and Inflammation. *Dig Dis Sci* 2001; 46(4):836-44.
- (358) Furlong CE. Paraoxonases: An historical perspective. In: Mackness B, Mackness M, Aviram M, and Paragh G, editors. *The Paraoxonases: Their Role in Disease Development and Xenobiotic Metabolism*. Dordrecht, The Netherlands: Springer, 2008:3-31.
- (359) Estin ML, Stoltz DA, Zabner J. Paraoxonase 1, quorum sensing, and *P. aeruginosa* infection: a novel model. *Adv Exp Med Biol* 2010; 660:183-93.
- (360) Işgör MM, Beydemir S. Some cardiovascular therapeutics inhibit paraoxonase 1 (PON1) from human serum. *Eur J Pharmacol* 2010; 645:135–42.
- (361) Ekinçi D, Beydemir S. Evaluation of the impacts of antibiotic drugs on PON 1; a major bioscavenger against cardiovascular diseases. *Eur J Pharmacol* 2009; 617:84–9.
- (362) Sans T, Rull A, Luna J, Mackness B, Mackness M, Joven J, Ibañez M, Pariente R, Rodriguez M, Ortin X, Masdeu G, Camps J. Monocyte chemoattractant protein-1 and paraoxonase-1 and 3 levels in patients with sepsis treated in an intensive care unit: a preliminary report. *Clin Chem Lab Med* 2012; 50(8):1409-15.
- (363) Arioiz DT, Camuzcuoglu H, Toy H, Kurt S, Celik H, Erel O. Assessment of serum paraoxonase and arylesterase activity in patients with endometrial cancer. *Eur J Gynaecol Oncol* 2009; 30(6):679-82.

- (364) Balci H, Genc H, Papila C, Can G, Papila B, Yanardag H, Uzun H. Serum lipid hydroperoxide levels and paraoxonase activity in patients with lung, breast, and colorectal cancer. *J Clin Lab Anal* 2012; 26(3):155-60.
- (365) Camuzcuoglu H, Ario DT, Toy H, Kurt S, Celik H, Erel O. Serum paraoxonase and arylesterase activities in patients with epithelial ovarian cancer. *Gynecol Oncol* 2009; 112(3):481-5.
- (366) Tonouchi H, Miki C, Tanaka K, Kusunoki M. Profile of monocyte chemoattractant protein-1 circulating levels in gastric cancer patients. *Scand J Gastroenterol* 2002; 37(7):830-3.
- (367) Amann B, Perabo FG, Wirger A, Hugenschmidt H, Schultze-Seemann W. Urinary levels of monocyte chemo-attractant protein-1 correlate with tumour stage and grade in patients with bladder cancer. *Br J Urol* 1998; 82(1):118-21.
- (368) Lu Y, Cai Z, Galson DL, Xiao G, Liu Y, George DE, Melhem MF, Yao Z, Zhang J. Monocyte chemotactic protein-1 (MCP-1) acts as a paracrine and autocrine factor for prostate cancer growth and invasion. *Prostate* 2006; 66(12):1311-8.
- (369) Wang H, Zhang Q, Kong H, Zeng Y, Hao M, Yu T, Peng J, Xu Z, Chen J, Shi H. Monocyte chemotactic protein-1 expression as a prognostic biomarker in patients with solid tumor: a meta analysis. *Int J Clin Exp Pathol* 2014;7(7):3876-86.
- (370) Hefler L, Tempfer C, Heinze G, Mayerhofer K, Breitenecker G, Leodolter S, Reinthaller A, Kainz C. Monocyte chemoattractant protein-1 serum levels in ovarian cancer patients. *Br J Cancer* 1999; 81(5):855-9.
- (371) Shibasaki H, Furukawa K, Yamamori H, Kimura F, Tashiro T, Miyazaki M. The post-operative level of serum monocyte chemoattractant protein-1 and its correlation with the severity of surgical stress. *J Surg Res* 2006; 136(2):314-9.
- (372) Kumon, Nakauchi, Kidawara, Fukushima, Kobayashi, Ikeda, Suehiro, Hashimoto and Sipe. A Longitudinal Analysis of Alteration in Lecithin-Cholesterol Acyltransferase and Paraoxonase Activities Following Laparoscopic Cholecystectomy Relative to Other Parameters of HDL Function and the Acute Phase Response. *Scand J Immunol* 1998; 48:419-24.
- (373) Farid AS, Horii Y. Modulation of paraoxonases during infectious diseases and its potential impact on atherosclerosis. *Lipids Health Dis* 2012; 11:92.
- (374) Tvarijonaviciute A, Kocaturk M, Cansev M, Tecles F, Ceron JJ, Yilmaz Z. Serum butyrylcholinesterase and paraoxonase 1 in a canine model of endotoxemia: effects of choline administration. *Res Vet Sci* 2012; 93(2):668-74.
- (375) Tekin Koruk S, Aksoy N, Hamidanoglu M, Karsen H, Unlu S, Bilinc H. The activity of paraoxonase and arylesterase in patients with osteomyelitis. *Scand J Clin Lab Invest* 2012; 72(7):513-7.
- (376) Karsen H, Binici I, Sunnetcioglu M, Baran AI, Ceylan MR, Selek S, Celik H. Association of paraoxonase activity and atherosclerosis in patients with chronic hepatitis B. *Afr Health Sci* 2012 ;12(2):114-8.

- (377) Apostolou F1, Gazi IF, Kostoula A, Tellis CC, Tselepis AD, Elisaf M, Liberopoulos EN. Persistence of an atherogenic lipid profile after treatment of acute infection with Brucella. *J Lipid Res* 2009; 50(12):2532-9.
- (378) Bojic S, Kotur-Stevuljevic J, Kalezic N, Jelic-Ivanovic Z, Stefanovic A, Palibrk I, Memon L, Kalaba Z, Stojanovic M, Simic-Ogrizovic S. Low paraoxonase 1 activity predicts mortality in surgical patients with sepsis. *Dis Markers* 2014; 2014:427378.
- (379) Kim JK, Chon CY, Kim JH, Kim YJ, Cho JH, Bang SM, Ahn SH, Han KH, Moon YM. Changes in serum and ascitic monocyte chemotactic protein-1 (MCP-1) and IL-10 levels in cirrhotic patients with spontaneous bacterial peritonitis. *J Interferon Cytokine Res* 2007; 27(3):227-30.
- (380) Bossink AW, Paemen L, Jansen PM, Hack CE, Thijs LG, Van Damme J. Plasma levels of the chemokines monocyte chemotactic proteins-1 and -2 are elevated in human sepsis. *Blood* 1995; 86:3841-7.
- (381) Jansen PM, van Damme J, Put W, de Jong IW, Taylor FB Jr, and Hack CE. Monocyte chemotactic protein 1 is released during lethal and sublethal bacteremia in baboons. *J Infect Dis* 1995; 171:1640-2.
- (382) Gavazzi G, Krause KH. Ageing and infection. *Lancet Infect Dis* 2002; 2:659-66.
- (383) Lesser JM, Hughes SV, Jemelka JR, Kumar S. Compiling a complete medical history: challenges and strategies for taking a comprehensive history in the elderly. *Geriatrics* 2005; 60:22-5.
- (384) Woodford HJ, Graham C, Meda M, Miculeviciene J. Bacteremic urinary tract infection in hospitalized older patients—are any currently available diagnostic criteria sensitive enough? *J Am Geriatr Soc* 2011; 59:567-8.
- (385) Biggi A, Dardanelli L, Pomero G, et al. Acute renal cortical scintigraphy in children with a first urinary tract infection. *Pediatr Nephrol* 2001; 16(9):733-8.
- (386) Garin EH, Olavarria F, Araya C, Broussain M, Barrera C, Young L. Diagnostic significance of clinical and laboratory findings to localize site of urinary infection. *Pediatr Nephrol* 2007; 22(7):1002-6.
- (387) Nanda N, Juthani-Mehta M. Novel biomarkers for the diagnosis of urinary tract infection-a systematic review. *Biomark insights* 2009; 4:111-121.
- (388) Matthews SJ, Lancaster JW. Urinary tract infections in the elderly population. *Am J Geriatr Pharmacother* 2011; 9(5):286-309.
- (389) Woodford HJ, George J. Diagnosis and management of urinary tract infection in hospitalized older people. *J Am Geriatr Soc* 2009; 57(1):107-14.
- (390) Farnsworth RH, Rossleigh MA, Leighton DM, Bass SJ, Rosenberg AR. The detection of reflux nephropathy in infants by 99mtechnetium dimercaptosuccinic acid studies. *J Urol* 1991; 145(3):542-6.

- (391) Waalen J. Is older colder or colder older? *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2011; 66:487–92.
- (392) Gau JT, Shibeshi MR, Lu JJ, et al. Interexpert agreement on diagnosis of bacteriuria and urinary tract infection in hospitalized older adults. *J Am Osteopathic Assoc* 2009; 109:220–6.
- (393) Heppner HJ, Cornel S, Peter W, Philipp B, Katrin S. Infections in the elderly. *Crit Care Clin* 2013; 29(3):757–74.
- (394) Ragnarsdottir B, Samuelsson M, Gustafsson MC, Leijonhufvud I, Karpman D. Reduced toll-like receptor 4 expression in children with asymptomatic bacteriuria. *J Infect Dis* 2007; 196:475–84.
- (395) Kunin CM. Urinary Tract Infections. Detection, ed. Prevention and Management. Baltimore: Williams and Wilkins.1997.
- (396) Sunden F, Hakansson L, Ljunggren E, Wullt B. Escherichia coli 83972 bacteriuria protects against recurrent lower urinary tract infections in patients with incomplete bladder emptying. *J Urol* 2010; 184:179–85.
- (397) Hernández JG, Sundén F, Connolly J, Svanborg C, Wullt B (2011) Genetic Control of the Variable Innate Immune Response to Asymptomatic Bacteriuria. *PLoS ONE* 2014; 6(11): e28289.
- (398) Zdziarski J, Svanborg C, Wullt B, Hacker J, Dobrindt U (2008) Molecular basis of commensalism in the urinary tract: low virulence or virulence attenuation? *Infect Immun* 2008; 76:695–703.
- (399) Grubeck-Loebenstein B, Wick G. The aging of the immune system. *Adv Immunol* 2002; 80:243–84.
- (400) Yoshimura T, Robinson EA, Tanaka S, Appella E, Leonard EJ. Purification and amino acid analysis of two human monocyte chemoattractants produced by phytohemagglutinin-stimulated human blood mononuclear leukocytes. *J Immunol* 1989; 142(6):1956–62.
- (401) Ragnarsdottir B, Fischer H, Godaly G, Gronberg-Hernandez J, Gustafsson M, Karpman D, Lundstedt AC, Lutay N, Rämisch S, Svensson ML, Wullt B, Yadav M, Svanborg C. TLR- and CXCR1-dependent innate immunity: insights into the genetics of urinary tract infections. *Eur J Clin Invest* 2008; 38(Suppl 2): 12–20.
- (402) Ragnarsdottir B, Lutay N, Gronberg-Hernandez J, Koves B, Svanborg C . Genetics of innate immunity and UTI susceptibility. *Nat Rev Urol* 2011; 8:449–68.
- (403) Chromek M, Slamova Z, Bergman P, Kovacs L, Podracka L, Ehrén I, Hökfelt T, Gudmundsson GH, Gallo RL, Agerberth B, Brauner A. The antimicrobial peptide cathelicidin protects the urinary tract against invasive bacterial infection. *Nat Med* 2006; 12:636–41.
- (404) Otto G, Burdick M, Strieter R, Godaly G. Chemokine response to febrile urinary tract infection. *Kidney Int* 2005; 68(1):62–70.

- (405) Schlondorff D, Nelson PJ, Luckow B, Banas B: Chemokines and renal disease. *Kidney Int* 1997; 51:610–21.
- (406) Xia Y, Feng L, Yoshimura T, Wilson CB: LPS-induced MCP-1, IL-1 beta, and TNF-alpha mRNA expression in isolated erythrocyteperfused rat kidney. *Am J Physiol* 1993; 264:774-80.
- (407) Hedges S, Svensson M, Agace W, Svanborg C: Cytokines induce an epithelial cell cytokine response. *Adv Exp Med Biol* 1995; 371:189–93.
- (408) Godaly G, Otto G, Burdick MD, Strieter RM, Svanborg C. Fimbrial lectins influence the chemokine repertoire in the urinary tract mucosa. *Kidney Int* 2007; 71(8):778-86.
- (409) Stucker F, Herrmann F, Graf JD, Michel JP, Krause KH, Gavazzi G. Procalcitonin and Infection in Elderly Patients. *J Am Geriatr Soc* 2005; 53:1392–5.
- (410) David van Duin. Diagnostic Challenges and Opportunities in Older Adults With Infectious Diseases. *Clin Infect Dis* 2012; 54 (7):973-8.
- (411) Heppner HJ, Bertsch T, Alber B. Procalcitonin: inflammatory biomarker for assessing the severity of community-acquired pneumonia-a clinical observation in geriatric patients. *Gerontology* 2010; 56(4):385–9.
- (412) Muller F, Christ-Crain M, Bregenzer T, Krause M, Zimmerli W, Mueller B, Schuetz P; ProHOSP Study Group. Procalcitonin levels predict bacteremia in patients with community-acquired pneumonia: a prospective cohort trial. *Chest* 2010; 138(1):121–9.
- (413) Gurgoze MK, Akarsu S, Yilmaz E, Gödekmerdan A, Akça Z, Ciftçi I, Aygün AD. Proinflammatory cytokines and procalcitonin in children with acute pyelonephritis. *Pediatr Nephrol* 2005; 20(10):1445–8.
- (414) Pecile P, Miorin E, Romanello C, et al. Procalcitonin: a marker of severity of acute pyelonephritis among children. *Pediatrics* 2004; 114(2):e249–54.
- (415) Smolkin V, Koren A, Raz R, Colodner R, Sakran W, Halevy R. Procalcitonin as a marker of acute pyelonephritis in infants and children. *Pediatr Nephrol* 2002; 17(6):409–12.
- (416) Bishara J, Leibovici L, Huminer D, Drucker M, Samra Z, Konisberger H, Pitlik S. Five-year prospective study of bacteraemic urinary tract infection in a single institution. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1997; 16:563-7.
- (417) Nicolle LE, Bradley S, Colgan R, Rice JC, Schaeffer A, Hooton TM. Infectious Diseases Society of America guidelines for the diagnosis and treatment of asymptomatic bacteriuria in adults. *Clin Infect Dis* 2005; 40:643-54.
- (418) Herring AR, Williamson JC. Principles of antimicrobial use in older adults. *Clin Geriatr Med* 2007; 23(3):481–97.

(419) Phillips CD, Adepoju O, Stone N, McMaughan Moudouni DK, Nwaiwu O, Zhao H, Frentzel E, Mehr D, Garfinkel S. Asymptomatic bacteriuria, antibiotic use, and suspected urinary tract infections in four nursing homes. BMC Geriatrics 2012; 12:73.

Anexos



ANEXO I

Índice de comorbilidad de Charlson (versión abreviada)

Enfermedad vascular cerebral	1
Diabetes	1
Enfermedad pulmonar obstructiva crónica	1
Insuficiencia cardíaca/cardiopatía isquémica	1
Demencia	1
Enfermedad arterial periférica	1
Insuficiencia renal crónica (diálisis)	2
Cáncer	2
Total =	

Puntuación McCabe y Jackson – Es una clasificación de la gravedad de la situación médica basal del paciente. Categorías de respuesta:

- Enfermedad no fatal (expectativa de vida superior a 5 años);
- Enfermedad tardíamente fatal (expectativa de vida entre 1 y 4 años);
- Enfermedad rápidamente fatal (expectativa de vida inferior a 1 año).

ANEXO II

Artículo científico

- Iftimie S, García-Heredia A, Pujol I, Ballester F, Fort- Gallifa I, Joven J, Castro A, Camps J. Paraoxonase-1, a potentially useful biomarker for the diagnosis of acute concomitant infection in patients with an indwelling central venous catheter. (en revisión)

Type of manuscript: Research article

Paraoxonase-1, a potentially useful biomarker for the diagnosis of acute concomitant infection in patients with an indwelling central venous catheter

Simona Iftimie¹, Anabel García-Heredia², Isabel Pujol³, Frederic Ballester³, Isabel Fort-Gallifa^{2,3}, Jorge Joven², Antoni Castro^{1,*†}, and Jordi Camps^{2,*†}

¹Department of Internal Medicine, ²Unitat de Recerca Biomèdica, and ³Laboratori de Referència Sud, Hospital Universitari de Sant Joan, Institut d'Investigació Sanitària Pere Virgili, Universitat Rovira i Virgili, Reus, Spain

*Correspondence: Jordi Camps, PhD, Unitat de Recerca Biomèdica, Hospital Universitari de Sant Joan, C. Sant Joan s/n, 43201-Reus, Catalunya, Spain (jcamp@grupsagessa.com) or Antoni Castro, MD, PhD, Servei de Medicina Interna, Hospital Universitari de Sant Joan, Institut d'Investigació Sanitària Pere Virgili, Universitat Rovira i Virgili, Reus, Spain (acastro@grupsagessa.com).

† These authors share senior co-authorship

E-mail addresses:

Simona Iftimie: smiftimie@grupsagessa.com

Anabel García-Heredia: ghanabel@gmail.com

Isabel Pujol: IPujol@lrsud.cat

Frederic Ballester: FBallester@lrsud.cat

Isabel Fort-Gallifa: ifort@lrsud.cat

Jorge Joven: jorge.joven@urv.cat

Antoni Castro: acastro@grupsagessa.com

Jordi Camps: jcamp@grupsagessa.com

Abstract

Background: Identification of biochemical markers to diagnose bloodstream infections in patients with a central venous catheter (CVC) inserted is an active research pursuit. Paraoxonase-1 (PON1) is an enzyme participating in the innate immune system protecting against toxic substances and infectious agents. We investigated the relationships between serum PON1 alterations and the characteristics of infection in a group of patients with a CVC implant.

Methods: Patients (n=114) who had had an inserted CVC removed because of infection or because the usefulness was at an end, and 407 healthy volunteers were recruited. In all participants we measured serum PON1 lactonase and paraoxonase activities, PON1 concentration and genetic polymorphisms, together with levels of monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1), procalcitonin and C-reactive protein (CRP).

Results: Patients with an acute concomitant infection (ACI) had higher MCP-1, CRP and procalcitonin concentrations than the control group, together with lower paraoxonase and lactonase activities. Receiver operating characteristic plots showed that the diagnostic accuracy of PON1-related variables was significantly higher to that of the other studied parameters in discriminating between patients with and without an ACI.

Conclusion: Measurement of PON1 may be useful as a tool for the diagnosis of ACI in patients with a CVC inserted.

Key words: Biomarkers; Catheters; Infection; Paraoxonase-1

Background

The use of central venous catheters (CVC) is ubiquitous in hospital care worldwide. These devices provide vascular access for the extraction of blood samples for analyses, infusion of intravenous drugs, parenteral nutrition, and access for hemodialysis and for hemodynamic monitoring. However, their use carries the risk of bloodstream infection, which is associated with increased morbidity, mortality and healthcare costs [1,2]. The conventional approach to the management of such infections involves decision-making regarding the removal of the indwelling catheter and the implementation of intravenous antibiotic therapy. Unfortunately, diagnosis of bloodstream infection is often complicated by symptoms such as fever, chills and hypotension, which are non-specific [3]. Therefore, to find biochemical markers able to diagnose bloodstream infections accurately in patients with a CVC inserted is imperative, and constitutes an active line of research.

The paraoxonases (PON) are a group of three lactonases (PON1, PON2, and PON3) ubiquitously expressed in human tissues, with antioxidant and anti-inflammatory properties. While PON2 is exclusively intracellular, PON1 and PON3 are also found in the circulation bound to high-density lipoproteins [4]. Schweikert et al. [5] suggested that PON2 and PON3 are an important part of our innate defense system against *Pseudomonas aeruginosa*. Moreover, PON2-deficient mice have a higher sensitivity to bacterial infection than wild-type mice [6,7]. Several lines of evidence suggest that PON1 participates in the protection conferred by high-density lipoproteins against different infectious agents, including bacteria [8-10] and viruses [11-13]. Overall, these results indicate that the PON family of proteins can be considered part of the innate immunity system [14].

Despite these potentially important pointers, there is a dearth of clinical information on the association between the PON family and infectious diseases. Our study sought to investigate the relationships between serum PON1 levels (and genetic

polymorphisms) with the clinical and biochemical characteristics of infection in a group of patients with an implanted CVC. Results suggest that serum PON1 activity and concentration may be useful and efficient biochemical markers for the diagnosis of acute concomitant infection (ACI) in patients carrying a CVC.

Methods

Ethics approval

The study was approved by the Ethics Committee (Institutional Review Board) of the *Hospital Universitari de Sant Joan*. All the participants provided written informed consent to participation in the study on the understanding that anonymity of data is guaranteed.

Participants

We prospectively recruited, between March 2011 and June 2013, a total of 114 patients who had had an indwelling CVC removed because of infection, or because it was no longer needed according to the criterion of the attending physician. Exclusion criteria were: <18 years of age, severe alcoholism, psychiatric diseases, or liver impairment. Our protocol for management of an indwelling CVC is based on the recommendations of the Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee of the Center for Disease Control and Prevention (HICPAC-CDC, 2002) [15]. At the time of catheter removal, a blood sample was obtained for biochemical and genetic analyses, and the catheter tip was cultured for microbiological analyses. The participants' medical records were reviewed and pertinent demographic data, comorbidities, bacteriologic and therapeutic data were recorded. Data on the patients' local and general infection-related clinical manifestations were also collected, as well as the presence of other acute or chronic infections. The type of treatment received in the 24h before the present study and the appearance of neoplasia after a 6 months follow-up, were recorded. The McCabe classification [16] and the Charlson comorbidity index [17] were recorded in

all patients. Of the participants, 38 (33.3%) were hospitalized for surgery-related reasons and 22 (19.3%) for an infectious disease. The location of the catheter tip was brachial in 51 patients (44.7%), subclavian in 51 (44.7%), jugular in 9 (7.9%), and femoral in 3 (2.6%).

Patients with an ACI were those suffering from an infection (abdominal abscess, pneumonia, etc.) that was not related to an infected catheter; 22 (19.3%) patients had an ACI without a catheter-related infection (CRI), 9 (7.9%) patients had a CRI without an ACI, and 14 (12.3%) patients had both infections simultaneously.

The control group consisted of 407 healthy volunteers who participated in an epidemiological study conducted in our geographical area, the details of which have been previously reported [18]. These subjects had no clinical or biochemical evidence of renal insufficiency, liver disease, neoplasia or neurological disorders.

Biochemical analyses

The physiological substrate, or substrates, for PON1 have not, as yet, been identified. Since PON1 has lactonase and esterase activities [4], we decided, in the present study, to measure the catalytic activity of PON1 using two different substrates: 5-thiobutyl butyrolactone (TBBL, a synthetic lactone) and paraoxon (an ester), as previously described [19,20]. Briefly, TBBLase activity was measured in an assay reagent containing 1mM CaCl₂, 0.25 mM TBBL and 0.5 mM 5,5'-dithio-bis-2-nitrobenzoic acid (DTNB) in 0.05 mM Tris-HCl buffer, pH = 8.0. The change in absorbance was monitored at 412 nm. Activities were expressed as U/L (1 U = 1 mmol of TBBL hydrolyzed per minute). Serum PON1 paraoxonase activity was determined as the rate of hydrolysis of paraoxon at 410 nm and 37°C in a 0.05 mM glycine buffer, pH 10.5 with 1 mM CaCl₂ [18]. Activities were expressed as U/L (1 U = 1 µmol of paraoxon hydrolyzed per minute). Serum PON1 concentrations were determined by an in-house enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) with a rabbit polyclonal antibody generated against the synthetic peptide CRNHQSSYQTRLNALREVQ which is a

sequence specific for mature PON1 [21,22]. PON1 specific activities were calculated as the ratio between the activity and the corresponding concentration. The serum concentration of C-reactive protein (CRP) was measured using a high sensitivity method (Horiba ABX, Montpellier, France). The serum concentration of procalcitonin and the EDTA-plasma concentration of MCP-1 were measured by ELISA (Biovendor, Brno, Czech Republic, and Prepotech, London, UK, respectively).

PON1 genotyping

Serum PON1 activity is strongly determined by the enzyme genotype [20,23]. Several polymorphisms in the promoter and the coding regions of the *PON1* gene have been described and, in the present study, we chose to analyze the polymorphisms Arg/Gln at position 192 (*PON1*₁₉₂, with two alleles termed Q and R), and the polymorphism Leu/Met at position 55 (*PON1*₅₅, with two alleles termed L and M). *PON1*₁₉₂ is strongly associated with the enzyme's activity and *PON1*₅₅ is a surrogate of the *PON1*₋₁₀₈ promoter polymorphism [4]. For polymorphism analyses, genomic DNA was obtained from leukocytes (Puregene DNA Isolation reagent set, Gentra Systems Inc., Minneapolis, MN, USA), and the chosen polymorphisms were analyzed by the Iplex Gold MassArrayTM method (Sequenom Inc., San Diego, CA, USA).

Microbiology analyses

Catheter tips were cultured by the semi-quantitative method of Maki et al [24]. Patients were classified according to clinical and microbiological criteria [25,26] as follows: “uninfected”, when there was no evidence of infection and catheter cultures were negative (CRI = 0); “localized catheter colonization”, when a significant growth of a microorganism (>15 colony-forming units) from the catheter tip was positive but without clinical evidence of infection (CRI = 1); “exit site infection” when there was erythema or induration within 2 cm of the catheter exit site (CRI = 2); “catheter-related bloodstream infection”, when catheter culture and blood culture were tested positive for the same microorganism (CRI = 3). Subsequently, the identification and susceptibility

testing of the culture isolate was performed by automated microdilution (MicroScan WalkAway[®], Siemens Healthcare, Erlangen, Germany) and/or disk diffusion method and complementary biochemical tests, depending on the type of microorganism.

Statistical analyses

All calculations were performed with the SPSS 22.0 statistical package (SPSS Inc., Chicago, IL, USA). Differences between two groups were assessed with the Mann-Whitney *U* test, since most of the studied variables presented with non-parametric distributions. Differences between more than two groups were analyzed by the Kruskal-Wallis test. We fitted two binary logistic regression analyses to identify those variables independently associated with the presence of an ACI. Qualitative data were analyzed with the χ^2 test. Results are shown as medians and 95%CI. Spearman correlation coefficient was used to evaluate the degree of association between variables. The diagnostic accuracy of the investigated biochemical variables was assessed by receiver operating characteristic (ROC) curves [27,28]. The areas under the curve (AUROC) of the chosen variables were compared using the statistical methods described by Hanley and McNeil [29]. Sensitivity, specificity, positive predictive value (PPV) and negative predictive value (NPV) were calculated using standard statistical methods [30].

Results

Clinical and demographic characteristics

Surgical intervention had occurred more frequently in patients with an infected catheter than in those patients without catheter infection. They also had a higher frequency of ACI, and were treated more frequently with antibiotics and/or parenteral nutrition. Brachial catheters had been implanted more often in patients without a catheter infection. We did not observe any significant difference in any of the other studied variables, including McCabe and Charlson indices (Table S1. Additional file).

Changes in the levels of infection/inflammation biomarkers and in PON1-related variables

Patients with a CVC had higher MCP-1, CRP and procalcitonin concentrations than the control group, and lower paraoxonase and TBBLase activities. There were no significant differences in PON1 concentrations. Consequently, when we calculated the paraoxonase and TBBLase specific activities (i.e. the enzyme activities per gram of PON1 protein), we observed significant decreases in both parameters (Table 1). Differences were more marked in the patients with a higher CRI (Table S2. Additional file). We did not observe any significant differences between patients and controls with respect to genotype frequencies of the *PON1*₁₉₂ and *PON1*₅₅ gene polymorphisms (Table S3. Additional file). There were significant inverse correlations between several PON1-related parameters and procalcitonin and CRP concentrations (Figure 1).

When the patients were segregated according to whether or not they had a CVC infection, we observed that patients with infected catheters had higher MCP-1 and CRP, and lower paraoxonase and TBBLase activities, and specific activities (Figure 2). In addition, when the patients were segregated according to whether they had an ACI or not, we observed that patients having a concomitant infection had higher MCP-1, CRP, procalcitonin, and PON1 concentrations, and lower paraoxonase and TBBLase activities, and specific activities (Figure 3).

Diagnostic accuracy of the infection/inflammation markers and PON1-related variables

When comparing the diagnostic accuracy of CRP, procalcitonin, MCP-1 and the PON1-related variables in discriminating whether or not patients had an ACI, we found that the AUROC were significantly higher for TBBLase and paraoxonase specific activities than for the classical biochemical markers of infection or inflammation (Figure 4A and Table 2). Conversely, CRP showed the best performance in discriminating patients with a catheter infection (Figure 4B and Table 2). In addition, binary logistic regression

analyses showed that both TBBLase and paraoxonase specific activities, and not CRP, procalcitonin or MCP-1, were independently associated with the presence of ACI (Table 3).

We also made a preliminary attempt to identify decision-making cutoff values for the diagnosis of ACI using TBBLase and paraoxonase specific activities. The best results were obtained for a TBBLase specific activity of 24 U/g (sensitivity = 77.1%; specificity = 77.0%; PPV = 61.4%; NPV = 87.7%) and for a paraoxonase specific activity of 1.60 KU/g (sensitivity = 65.7%; specificity = 75.7%; PPV = 56.1%; NPV = 82.3%).

Discussion

The present study showed a significant decrease in serum PON1 activity in patients with an indwelling CVC. This decrease was observed in the measured TBBLase (lactonase) and the paraoxonase (esterase) activities of this enzyme. PON1 hydrolyzes a broad range of substrates including esters, lactones, lipid peroxides, and estrogen esters [4]. This lack of substrate specificity is probably due to PON1 being an ancestral enzyme that appeared very early-on in evolution; it is present in many organisms ranging from invertebrates to mammals [31]. Directed evolution studies, together with structure-function studies, established the primordial function of PON1 as that of a lactonase [32] which subsequently evolved new substrate specificities. Accumulating evidence indicates that the main function of PON1 is to degrade lipid peroxides and quorum-sensing lactones and, hence, plays an important role in the innate defense system against infection and oxidative stress [33]. Our results show that the decrease in PON1 activity in patients with an implanted CVC is not substrate-specific and involves lactonase as well as esterase activities. In addition, serum PON1 concentration did not decrease but remained unchanged, or even increased, in some subgroups of our patients, implying that the decrease in activity was due to enzyme inactivation.

Consequently, PON1 specific activities were also decreased. The inactivation of serum PON1 activity may be explained by several factors that are not mutually exclusive. Firstly, our patients had a high incidence of diseases associated with oxidative stress (diabetes mellitus, COPD, ischemic heart disease, dyslipidemia, cancer). PON1 degrades lipid peroxides, but the PON1 active site for their hydrolysis requires a free sulfhydryl group at cysteine 284, with lipid peroxides reacting covalently with this site leading to enzyme inactivation [34]. This implies that every PON1 molecule degrading an oxidized lipid becomes inactivated; the consequence being that the overall enzyme activity is decreased. Secondly, some bacteria can inactivate PON1 activity. Quorum-sensing lactones secreted by Gram-negative bacteria mediate intracellular Ca^{2+} elevation in host cells, which causes rapid inactivation and degradation of PON1 [5]. Thirdly, some treatments have an inhibitory action on PON1 activity. These include digoxin, metoprolol, verapamil, diltiazem, amiodarone and methylprednisolone. In addition, antibiotics such as teicoplanin, rifampin, tobramycin, ceftriaxone, cefuroxime, ceftazidime, amikacin, ornidazole also inhibit the enzyme [35,36].

We did not observe any significant differences in *PON1* polymorphisms between patients with a CVC and the control group. We believe it is important to highlight these data to address the possibility that the observed differences in enzyme activities could be due to the disease *per se*, or resulting from dissimilar distributions of allelic frequencies in cases and controls. Our results show that genotype differences do not explain the observed changes in PON1 activities.

In daily practice, patients are hospitalized for various pathologies requiring the use of an indwelling CVC for the administration of life-preserving fluids including antibiotics, parenteral nutrition, whole blood, plasma, dextrose and saline. When fever occurs, it is difficult to ascertain if the source is the central catheter or a complication of the underlying disease. To find reliable biomarkers to discriminate between these etiologies is relevant from the clinical point of view because withdrawal of the CVC

and insertion of a replacement is considerably invasive and not exempt from risks such as pneumothorax or hemothorax. The most important conclusion of the present study is that TBBLase and paraoxonase specific activities have a higher diagnostic accuracy than CRP or procalcitonin in the diagnosis of ACI in patients with an indwelling CVC, with slightly better results for TBBLase. Procalcitonin is a relatively good marker for invasive bacterial infections, while CRP is more non-specific and can be elevated in most inflammatory, neoplastic, and infective conditions [37]. These markers have generated varying results in different clinical settings. Generally, procalcitonin has shown a better performance than CRP in the diagnosis of bacterial infections [38,39]. Several studies have reported that this parameter improves the diagnosis of sepsis in critically-ill patients [40-45] and is useful in monitoring antibiotic therapy in infected patients in an Intensive Care Unit (ICU) [46,47]. However, it also has been reported that procalcitonin does not have good diagnostic accuracy in predicting pneumonia in patients treated in Primary Care [48,49] and that CRP is better than procalcitonin in monitoring antibiotic therapy in patients with pulmonary disease [37]. Most infections are far too complex to be reduced to a single cutoff point of any biomarker, and the performance of any one of them may vary depending on the type of infection, the severity, and the presence or not of underlying diseases. In our study, the extent of infection is relatively low, as compared with reports in critical patients treated in ICU, and the serum concentrations of procalcitonin observed in our study were not very high. In this particular setting, our results show that TBBLase and paraoxonase specific activities have a better performance than procalcitonin and CRP.

Although the number of patients investigated is too low for a reliable determination of cutoff values, the present study shows that the measurements of TBBLase or paraoxonase specific activities have a high NPV in the diagnosis of ACI in patients with an indwelling CVC, while the PPV is moderate i.e. they are mainly useful in ruling out the presence of this complication.

An evident question is why we chose to measure PON1-related parameters, instead of PON2 or PON3, when there is more evidence in the literature for the involvement of these other two molecules in the protection against infection [33]. Essentially, our reasons were practical: PON2 is an exclusively intracellular enzyme that cannot be measured in the circulation. PON3, on the other hand, is found in blood bound to high-density lipoprotein particles and the method for its measurement involves hydrolysis of simvastatin to β,δ -dihydroxyacid simvastatin which is, then, measured spectrophotometrically following high-performance liquid chromatography separation [50]. These methods are cumbersome and are rarely available in a routine clinical laboratory. Conversely, serum TBBLase or paraoxonase activities may be analyzed in standard microplates in a few minutes, are relatively cheap and do not require any specific equipment with the exception of a fume hood to manipulate the paraoxon substrate currently used in measuring paraoxonase activity. Serum PON1 concentration may also be analyzed easily using ELISA. Although we chose to employ our in-house method, several commercial companies have launched reliable kits for the measurement of PON1 concentration.

Conclusion

Our study needs to be considered preliminary. The population studied is heterogeneous, and the participants differ with respect to etiology and comorbidities. Additionally, the number of participants is relatively low. Despite these caveats, our results suggest that the measurement of serum TBBLase, or paraoxonase, specific activities may be useful tools for the diagnosis of ACI in patients carrying a CVC.

Additional file

Additional file 1: Supplementary tables.

Table S1. Clinical and demographic characteristics of the patients with an indwelling central venous catheter. **Table S2.** Results of selected biochemical variables in patients with a CVC, and classified according to the severity of the catheter-related infection (CRI). **Table S3.** Genotype frequencies of the *PON1*₁₉₂ and *PON1*₅₅ gene polymorphisms in the control group and in patients with an indwelling central venous catheter

Abbreviations

ACI: acute concomitant infection; AUROC: areas under the curve of receiver operating characteristic; CRI: catheter-related infection; CRP: C-reactive protein; CVC: central venous catheter; DTNB: 5,5'-dithio-bis-2-nitrobenzoic acid; ELISA: enzyme-linked immunosorbent assay; ICU: Intensive Care Unit; MCP-1: monocyte chemoattractant protein-1; NPV: negative predictive value; PON: paraoxonase; PPV: positive predictive value; ROC: receiver operating characteristic; TBBL: 5-thiobutyl butyrolactone

Competing interests

The authors declare that they have no competing interests.

Authors' contributions

SI, AC, JJ and JC designed the study. SI and AC conducted the clinical aspects of the trial. AGH, IP, FB, IGF and JJ conducted the laboratory aspects of the trial. Data management was provided by SI and AGH. JC wrote the first draft of the manuscript. All authors contributed to subsequent drafts. All authors read and approved the final manuscript.

Acknowledgements

This study was supported by grants from the *Instituto de Salud Carlos III* (PII102817 and PII100130), Madrid, Spain. We thank Dr. Dan Tawfik from the Weizmann Institute of Science (Rehovot, Israel) for the generous gift of the TBBL reagent. Editorial assistance was provided by Dr. Peter R. Turner of Tscimed.com

References

1. Mermel LA: **What is the predominant source of intravascular catheter infections?** *Clin Infect Dis* 2011, **52**:211-212.
2. O'Grady NP, Alexander M, Burns LA, Dellinger EP, Garland J, Heard SO, Lipsett PA, Masur H, Mermel LA, Pearson ML, Raad II, Randolph AG, Rupp ME, Saint S; Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee (HICPAC): **Guidelines for the prevention of intravascular catheter-related infections.** *Clin Infect Dis* 2011, **52**:e162-193.
3. Theodorou VP, Papaioannou VE, Tripsianis GA, Panopoulou MK, Christophoridis EK, Kouliatsis GA, Gioka TM, Maltezos ES, Ktenidou-Kartali SI, Pneumatikos IA: **Procalcitonin and procalcitonin kinetics for diagnosis and prognosis of intravascular catheter-related bloodstream infections in selected critically ill patients: a prospective observational study.** *BMC Infect Dis* 2012, **12**:247.
4. Camps J, Marsillach J, Joven J: **The paraoxonases: role in human diseases and methodological difficulties in measurement.** *Crit Rev Clin Lab Sci* 2009, **46**:83-106.
5. Schweikert EM, Amort J, Wilgenbus P, Förstermann U, Teiber JF, Horke S: **Paraoxonases-2 and -3 are important defense enzymes against *Pseudomonas aeruginosa* virulence factors due to their anti-oxidative and anti-inflammatory properties.** *J Lipids* 2012, **2012**:352857.

6. Stoltz DA, Ozer EA, Ng CJ, Yu JM, Reddy ST, Lusi AJ, Bourquard N, Parsek MR, Zabner J, Shih DM: **Paraoxonase-2 deficiency enhances *Pseudomonas aeruginosa* quorum sensing in murine tracheal epithelia.** *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2007, **292**:L852-L860.
7. Devarajan A, Bourquard N, Grijalva VR, Gao F, Ganapathy E, Verma J, Reddy ST: **Role of PON2 in innate immune response in an acute infection model.** *Mol Genet Metab* 2013, **110**:362-370.
8. Mete R, Oran M, Alpsoy S, Gunes H, Tulubas F, Turan C, Topcu B, Aydin M, Yildirim O: **Carotid intima-media thickness and serum paraoxonase-1 activity in patients with *Helicobacter pylori*.** *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2013, **17**:2884-2889.
9. Campbell LA, Yaraei K, Van Lenten B, Chait A, Blessing E, Kuo CC, Nosaka T, Ricks J, Rosenfeld ME: **The acute phase reactant response to respiratory infection with *Chlamydia pneumoniae*: implications for the pathogenesis of atherosclerosis.** *Microbes Infect* 2010, **12**:598-606.
10. Apostolou F, Gazi IF, Kostoula A, Tellis CC, Tselepis AD, Elisaf M, Liberopoulos EN: **Persistence of an atherogenic lipid profile after treatment of acute infection with *Brucella*.** *J Lipid Res* 2009, **50**:2532-2539.
11. Karsen H, Binici I, Sunnetcioglu M, Baran AI, Ceylan MR, Selek S, Celik H: **Association of paraoxonase activity and atherosclerosis in patients with chronic hepatitis B.** *Afr Health Sci* 2012, **12**:114-118.
12. Apostolou F, Gazi IF, Lagos K, Tellis CC, Tselepis AD, Liberopoulos EN, Elisaf M: **Acute infection with Epstein-Barr virus is associated with atherogenic lipid changes.** *Atherosclerosis* 2010, **212**:607-613.
13. Parra S, Marsillach J, Aragonés G, Beltrán R, Montero M, Coll B, Mackness B, Mackness M, Alonso-Villaverde C, Joven J, Camps J: **Paraoxonase-1 gene**

- haplotypes are associated with metabolic disturbances, atherosclerosis, and immunologic outcome in HIV-infected patients.** *J Infect Dis* 2010, **201**:627-634.
14. Richter RJ, Jarvik GP, Furlong CE: **Paraoxonase 1 status as a risk factor for disease or exposure.** *Adv Exp Med Biol* 2010, **660**:29-35.
15. O'Grady NP, Alexander M, Dellinger EP, Gerberding JL, Heard SO, Maki DG, Masur H, McCormick RD, Mermel LA, Pearson ML, Raad II, Randolph A, Weinstein RA; Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee: **Guidelines for the prevention of intravascular catheter-related infections.** *Infect Control Hosp Epidemiol* 2002, **23**:759-769.
16. McCabe WR, Jackson GG: **Gram-negative bacteremia. I. Etiology and ecology.** *Arch Intern Med* 1962, **110**:847-864.
17. Berkman LF, Leo-Summers L, Horwitz RI: **Emotional support and survival after myocardial infarction. A prospective, population-based study of the elderly.** *Ann Intern Med* 1992, **117**:1003-1009.
18. Ferré N, Camps J, Fernández-Ballart J, Arija V, Murphy MM, Ceruelo S, Biarnés E, Vilella E, Tous M, Joven J: **Regulation of serum paraoxonase activity by genetic, nutritional, and lifestyle factors in the general population.** *Clin Chem* 2003, **49**:1491-1497.
19. Gaidukov L, Tawfik D: **The development of human sera tests for HDL-bound serum PON1 and its lipolactonase activity.** *J Lipid Res* 2007, **48**:1637-1646.
20. Marsillach J, Aragonès G, Beltrán R, Caballeria J, Pedro-Botet J, Morcillo-Suárez C, Navarro A, Joven J, Camps J: **The measurement of the lactonase activity of paraoxonase-1 in the clinical evaluation of patients with chronic liver impairment.** *Clin Biochem* 2009, **42**:91-98.
21. Marsillach J, Mackness B, Mackness M, Riu F, Beltrán R, Joven J, Camps J: **Immunochemical analysis of paraoxonases-1, 2, and 3 expression in normal mouse tissues.** *Free Radic Biol Med* 2008, **45**:146-157.

22. Martinelli N, Garcia-Heredia A, Roca H, Aranda N, Ariba V, Mackness B, Mackness M, Busti F, Aragonès G, Pedro-Botet J, Pedica F, Cataldo I, Marsillach J, Joven J, Girelli D, Camps J: **Paraoxonase-1 status in patients with hereditary hemochromatosis.** *J Lipid Res* 2013, **54**:1484-1492.
 23. Furlong CE, Richter RJ, Li WF, Brophy VH, Carlson C, Rieder M, Nickerson D, Costa LG, Ranchalis J, Lusis AJ, Shih DM, Tward A, Jarvik GP: **The functional consequences of polymorphisms in the human PON1 gene.** In *The paraoxonases: Their role in disease development and xenobiotic metabolism.* Edited by Mackness B, Mackness M, Aviram M and Paragh G. Dordrecht, The Netherlands: Springer; 2008:267-282.
 24. Maki DG, Weise CE, Sarafin HW: **A semiquantitative culture method for identifying intravenous-catheter-related infection.** *N Engl J Med* 1977, **296**:1305-1309.
 25. O'Grady NP, Alexander M, Dellinger EP, Gerberding JL, Heard SO, Maki DG, Masur H, McCormick RD, Mermel LA, Pearson ML, Raad II, Randolph A, Weinstein RA: **Guidelines for the prevention of intravascular catheter-related infections. Centers for Disease Control and Prevention.** *MMWR Recomm Rep* 2002, **51**:1-29.
 26. O'Grady NP, Alexander M, Burns LA, Dellinger EP, Garland J, Heard SO, Lipsett PA, Masur H, Mermel LA, Pearson ML, Raad II, Randolph AG, Rupp ME, Saint S; Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee (HICPAC): **Guidelines for the prevention of intravascular catheter-related infections.** *Clin Infect Dis* 2011, **52**:e162-e193.
 27. Zweig MH, Campbell G: **Receiver-operating characteristic (ROC) plots: a fundamental evaluation tool in clinical medicine.** *Clin Chem* 1993, **39**:561-577.
 28. Bruns DE, Huth EJ, Magid E, Young DS: **Toward a checklist for reporting studies of diagnostic accuracy of medical tests.** *Clin Chem* 2000, **46**:893-895.
-

29. Hanley JA, McNeil BJ: **The meaning and use of the area under a receiver operating characteristic (ROC) curve.** *Radiology* 1982, **143**:29–36.
30. Simon D, Boring JR III: **Sensitivity, Specificity, and Predictive Value.** In *Clinical Methods: The History, Physical, and Laboratory Examinations*. 3rd edition. Edited by Walker HK, Hall WD and Hurst JW. Boston: Butterworths, 1990:49-54.
31. Furlong CE: **Paraoxonases: An historical perspective.** In *The paraoxonases: Their role in disease development and xenobiotic metabolism*. Edited by Mackness B, Mackness M, Aviram M and Paragh G. Dordrecht, The Netherlands: Springer; 2008:3-31.
32. Khersonsky O, Roodveldt C, Tawfik DS: **Enzyme promiscuity: evolutionary and mechanistic aspects.** *Curr Opin Chem Biol* 2006, **10**:498-508.
33. Camps J, Pujol I, Ballester F, Joven J, Simó JM: **Paraoxonases as potential antibiofilm agents: their relationship with quorum-sensing signals in Gram-negative bacteria.** *Antimicrob Agents Chemother* 2011, **55**:1325-1331.
34. Aviram M, Rosenblat M, Billecke S, Eroglu J, Sorenson R, Bisgaier CL, Newton RS, La Du B: **Human serum paraoxonase (PON1) is inactivated by oxidized low density lipoprotein and preserved by antioxidants.** *Free Rad Biol Med* 1999, **26**:892-904.
35. Ekinici D, Beydemir S: **Evaluation of the impacts of antibiotic drugs on PON 1; a major bioscavenger against cardiovascular diseases.** *Eur J Pharmacol* 2009, **617**:84–89.
36. Işgör MM, Beydemir S: **Some cardiovascular therapeutics inhibit paraoxonase 1 (PON1) from human serum.** *Eur J Pharmacol* 2010, **645**:135–142.
37. Daniels JM, Schoorl M, Snijders D, Knol DL, Lutter R, Jansen HM, Boersma WG: **Procalcitonin vs C-reactive protein as predictive markers of response to antibiotic therapy in acute exacerbations of COPD.** *Chest* 2010, **138**:1108-1115.

38. Simon L, Gauvin F, Amre DK, Saint-Louis P, Lacroix J: **Serum procalcitonin and C-reactive protein levels as markers of bacterial infection: a systematic review and meta-analysis.** *Clin Infect Dis* 2004, **9**:206-217.
39. Simon L, Saint-Louis P, Amre DK, Lacroix J, Gauvin F: **Procalcitonin and C-reactive protein as markers of bacterial infection in critically ill children at onset of systemic inflammatory response syndrome.** *Pediatr Crit Care Med* 2008, **9**:407-413.
40. Schuetz P, Christ-Crain M, Müller B: **Biomarkers to improve diagnostic and prognostic accuracy in systemic infections.** *Curr Opin Crit Care* 2007, **13**:578-585.
41. Tromp M, Lansdorp B, Bleeker-Rovers CP, Gunnewiek JM, Kullberg BJ, Pickkers P: **Serial and panel analyses of biomarkers do not improve the prediction of bacteriemia compared to one procalcitonin measurement.** *J Infect* 2012, **65**:292-301.
42. Garnacho-Montero J, Huici-Moreno MJ, Gutiérrez-Pizarra A, López I, Márquez-Vácaro JA, Macher H, Guerrero JM, Puppo-Moreno A: **Prognostic and diagnostic value of eosinopenia, C-reactive protein, procalcitonin, and circulating cell-free DNA in critically ill patients admitted with suspicion of sepsis.** *Crit Care* 2014, **18**:R116.
43. Magrini L, Gagliano G, Travaglino F, Vetrone F, Marino R, Cardelli P, Salerno G, Di Somma S: **Comparison between white blood cell count, procalcitonin and C reactive protein as diagnostic and prognostic biomarkers of infection or sepsis in patients presenting to emergency department.** *Clin Chem Lab Med* 2014, **52**:1465-1472.
44. Andrijevic I, Matijasevic J, Andrijevic L, Kovacevic T, Zaric B: **Interleukin-6 and procalcitonin as biomarkers in mortality prediction of hospitalized patients with community acquired pneumonia.** *Ann Thorac Med* 2014, **9**:162-167.

45. Hoshina T, Nanishi E, Kanno S, Nishio H, Kusuhara K, Hara T: **The utility of biomarkers in differentiating bacterial from non-bacterial lower respiratory tract infection in hospitalized children: Difference of the diagnostic performance between acute pneumonia and bronchitis.** *J Infect Chemother* 2014, **20**:616-620.
46. Dupuy AM, Philippart F, Péan Y, Lasocki S, Charles PE, Chalumeau M, Claessens YE, Quenot JP, Guen CG, Ruiz S, Luyt CE, Roche N, Stahl JP, Bedos JP, Pugin J, Gauzit R, Misset B, Brun-Buisson C; Maurice Rapin Institute Biomarkers Group: **Role of biomarkers in the management of antibiotic therapy: an expert panel review : I-currently available biomarkers for clinical use in acute infections.** *Ann Intensive Care* 2013, **3**:22.
47. Su L, Han B, Liu C, Liang L, Jiang Z, Deng J, Yan P, Jia Y, Feng D, Xie L: **Value of soluble TREM-1, procalcitonin, and C-reactive protein serum levels as biomarkers for detecting bacteremia among sepsis patients with new fever in intensive care units: a prospective cohort study.** *BMC Infect Dis* 2012, **12**:157.
48. Holm A, Pedersen SS, Nexoe J, Obel N, Nielsen LP, Koldkjaer O, Pedersen C: **Procalcitonin versus C-reactive protein for predicting pneumonia in adults with lower respiratory tract infection in primary care.** *Br J Gen Pract* 2007, **57**:555-560.
49. van Nieuwkoop C, Bonten TN, van't Wout J, Kuijper EJ, Groeneveld GH, Becker MJ, Koster T, Wattel-Louis GH, Delfos NM, Ablij HC, Leyten EM, van Dissel JT: **Procalcitonin reflects bacteremia and bacterial load in urosepsis syndrome: a prospective observational study.** *Crit Care* 2010, **14**:R206.
50. Suchocka Z, Swatowska J, Pachecka J, Suchocki P: **RP-HPLC determination of paraoxonase 3 activity in human blood serum.** *J Pharm Biomed Anal* 2006, **42**:113-119.

Table 1 Results of selected biochemical variables in the control group and in the patients with an indwelling central venous catheter

Parameter	Control group n = 407 (95% CI)	Patients n = 114 (95% CI)	P*
Paraoxonase activity; U/L	278.8 (161.3 – 579.9)	203.0 (124.9 – 364.7)	< 0.001
TBBLase activity; U/L	5.5 (3.2 – 8.8)	2.9 (1.4 – 5.4)	< 0.001
PON1 concentration; mg/L	96.5 (43.6 – 290.5)	94.9 (35.5 – 260.3)	0.576
Paraoxonase specific activity; kU/g	2.91 (0.78 – 9.53)	2.13 (0.57 – 7.97)	0.005
TBBLase specific activity; U/g	55.5 (16.0 – 133.5)	29.0 (7.0 – 154.5)	< 0.001
MCP-1; ng/L	138.5 (85.6 – 259.0)	200.5 (124.1 – 416.8)	< 0.001
CRP; mg/L	1.34 (0.91 – 7.14)	19.80 (0.95 – 212.97)	< 0.001
Procalcitonin; µg/L	< 0.10	0.29 (0.11 – 1.04)	-

* Differences assessed by the Mann-Whitney *U* test. Specific activities calculated as enzyme activity ÷ corresponding PON1 concentration

Table 2 Areas under the receiver operating characteristics (AUROC) curves for the biochemical variables studied

Parameter	Diagnostic accuracy between patients with or without acute concomitant infection			Diagnostic accuracy between patients with or without infected catheter		
	AUROC	SE	95%CI	AUROC	SE	95%CI
Paraoxonase activity	0.75	0.046	0.66 – 0.84	0.62	0.067	0.49 – 0.75
TBBLase activity	0.66	0.055	0.56 – 0.77	0.52	0.071	0.38 – 0.66
PON1 concentration	0.77 ^a	0.048	0.67 – 0.86	0.63	0.074	0.48 – 0.77
Paraoxonase specific activity	0.81 ^{b,c,d}	0.042	0.73 – 0.89	0.67	0.066	0.54 – 0.79
TBBLase specific activity	0.81 ^{c,d}	0.044	0.71 – 0.89	0.65	0.067	0.52 – 0.78
MCP-1	0.67	0.053	0.56 – 0.77	0.66	0.062	0.54 – 0.78
CRP	0.68	0.054	0.58 – 0.79	0.78 ^{d,e}	0.046	0.69 – 0.87
Procalcitonin	0.63	0.060	0.51 – 0.74	0.55	0.076	0.40 – 0.70

SE: standard error; ^a *P* < 0.05: with respect to procalcitonin; ^b *P* < 0.05: with respect to CRP; ^c *P* < 0.05: with respect to MCP-1; ^d *P* < 0.01: with respect to procalcitonin; ^e *P* < 0.01: with respect to TBBLase activity.

Specific activities were calculated as enzyme activity ÷ corresponding PON1 concentration.

Table 3 Binary logistic regression analyses of the biochemical variables independently associated with the presence of a concomitant acute infection in patients with an indwelling central venous catheter

Variable	B	Standard error	Exp (B)	P
Model 1*				
Age	0.027	0.019	1.207	0.159
Gender	– 1.314	0.580	3.723	0.024
CRP	0.005	0.004	1.005	0.276
Procalcitonin	0.894	0.857	2.445	0.307
MCP-1	0.007	0.003	1.007	0.015
Paraoxonase specific activity	– 1.116	0.316	0.311	< 0.001
Constant	– 1.632	1.456	0.196	0.262
Model 2*				
Age	0.020	0.017	1.020	0.255
Gender	– 1.150	0.544	3.157	0.035
CRP	0.004	0.004	1.004	0.317
Procalcitonin	1.291	0.887	3.638	0.145
MCP-1	0.006	0.003	1.006	0.071
TBBLase specific activity	– 0.065	0.020	0.937	0.001
Constant	– 1.508	1.442	0.221	0.296

*Model 1: $r^2 = 0.376$; $P < 0.001$; Model 2: $r^2 = 0.321$; $P < 0.001$.

Specific activities were calculated as the enzyme activity ÷ the corresponding PON1 concentration.

Figure legends

Figure 1

Relationships between PON1-related variables *versus* procalcitonin and C-reactive protein (CRP) concentrations in patients with an indwelling central venous catheter

Figure 2

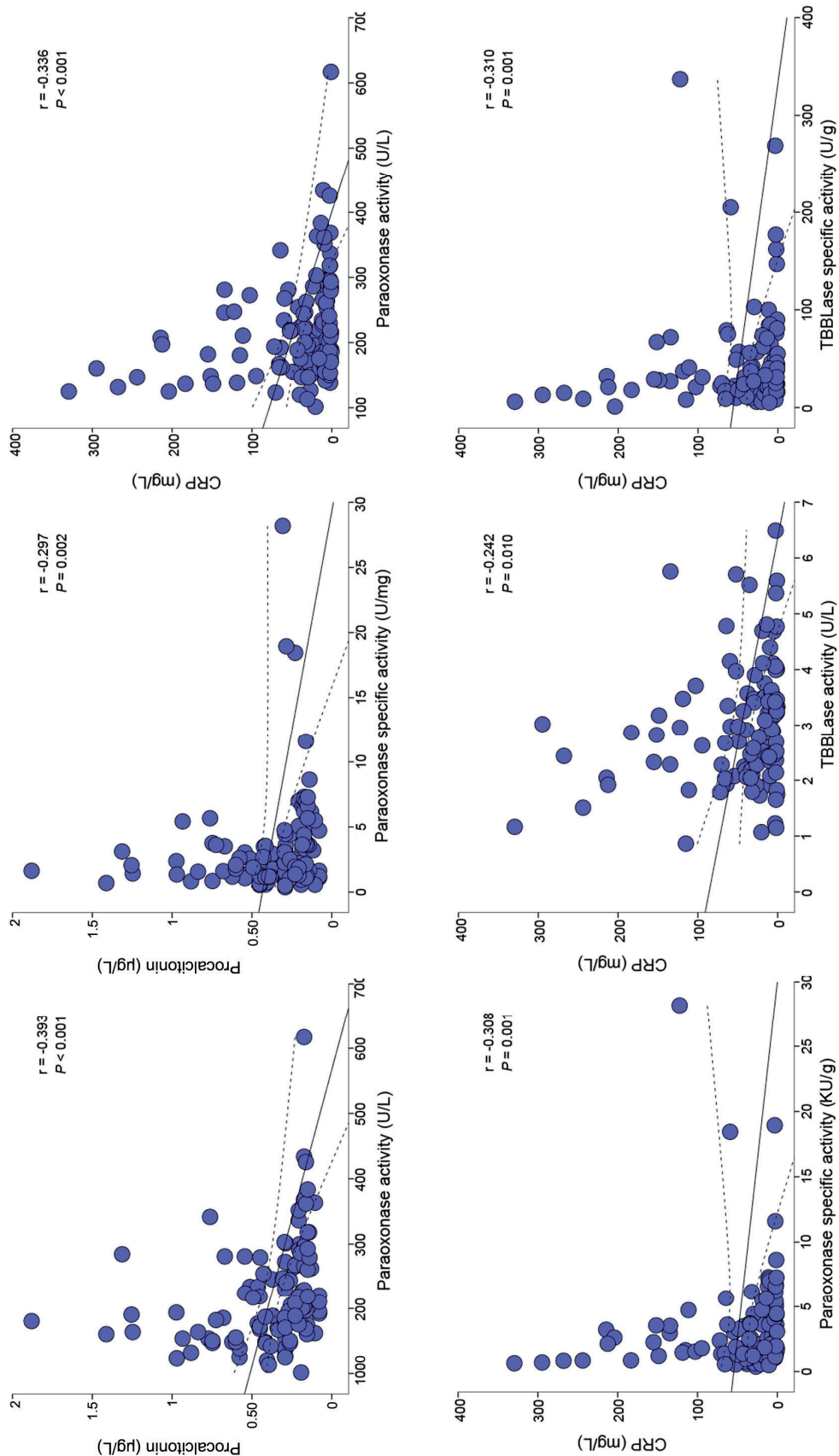
Results of selected biochemical variables in the control group and in patients with or without catheter-related infection (CRI)

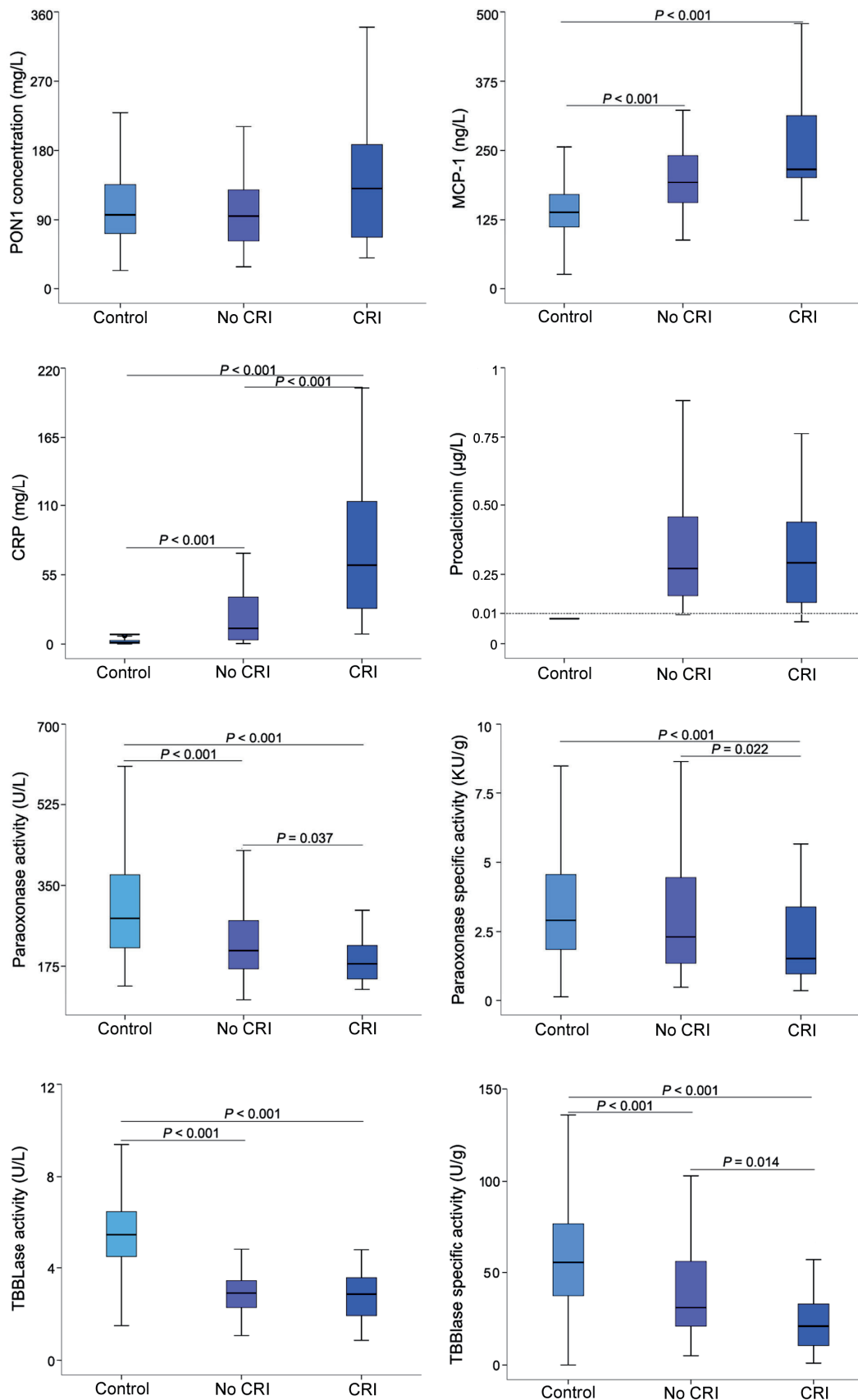
Figure 3

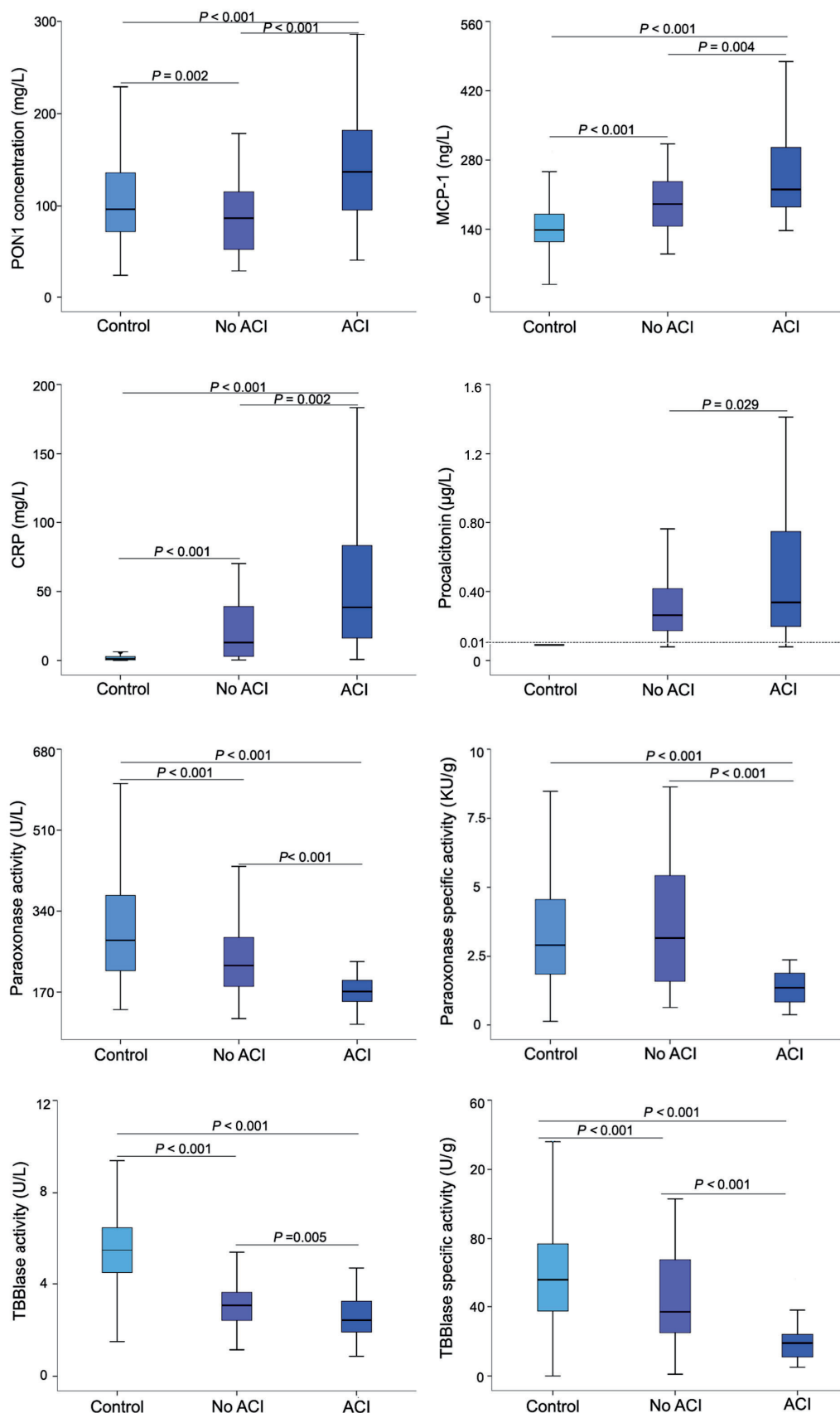
Results of selected biochemical variables in the control group and in patients with or without an acute concomitant infection (ACI)

Figure 4

Receiver operating characteristics plots for selected biochemical variables in patients segregated with respect to acute concomitant infection (left panel) or catheter infection (right panel)







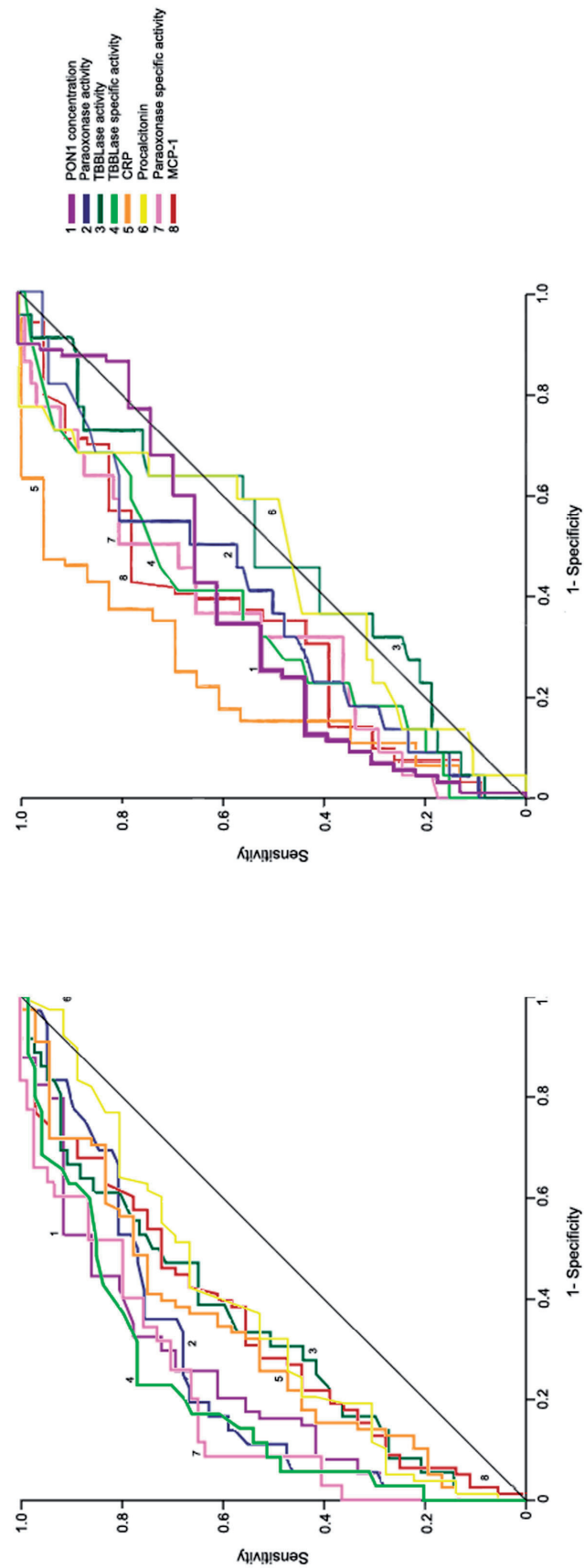


Table S1 Clinical and demographic characteristics of the patients with an indwelling central venous catheter

Feature*	No catheter infection n = 91	Catheter infection n = 23	P
Age, years	62 (33-83)	66 (27-86)	0.960
Gender, men	49.5	52.2	0.815
Smoking	25.3	13.0	0.212
Alcohol intake	17.6	8.7	0.296
Hypertension	53.9	43.5	0.374
Diabetes mellitus	29.7	26.1	0.735
Dyslipidemia	35.2	26.1	0.409
Ischemic heart disease	9.9	8.7	0.862
Renal insufficiency	9.9	4.3	0.401
Ictus	11.0	8.7	0.749
COPD	11.0	8.7	0.749
History of neoplasia	68.1	56.5	0.294
Post-study neoplasia	19.8	17.4	0.795
Treatment with immunosuppressants	51.6	8.7	<0.001
Surgery	24.2	69.6	<0.001
Concomitant acute infection	24.2	60.9	0.001
Concomitant chronic infection	1.1	0.0	0.614
Antibiotics 24h before the study	36.3	78.3	<0.001
Parenteral nutrition	31.8	69.6	0.001
Charlson index	No comorbidity	21.9	0.109
	Low comorbidity	45.1	
	High comorbidity	33.0	
	RFD	7.7	
McCabe index	UFD	28.6	0.553
	NFD	63.7	
	Brachial	51.6	
	Jugular	4.4	
Type of catheter	Subclavian	40.7	0.003
	Femoral	3.3	
Days with catheter	15 (6 – 223)	30 (6 – 367)	0.014

*All variables are expressed as % except for gender and days with catheter that are presented as medians and 95%CI.
 COPD: Chronic obstructive pulmonary disease. RFD: Rapidly fatal disease. UFD: Ultimately fatal disease
 NFD: Nonfatal disease.

Table S2. Results of selected biochemical variables in patients with a CVC, and classified according to the severity of the catheter-related infection (CRI)

Parameter	CRI = 0 n = 91 (95%CI)	CRI = 1 n = 11 (95%CI)	CRI = 2 n = 9 (95%CI)	CRI = 3 n = 3 (95%CI)	P*
Paraoxonase activity; U/L	208.9 (128.3 – 374.5)	195.5 (124.9 – 341.6)	180.4 (136.7 – 272.7)	126.7 (125.0 – 136.7)	0.031
TBBLase activity; U/L	2.9 (1.6 – 5.6)	3.3 (1.8 – 4.8)	2.7 (0.9 – 3.8)	1.9 (1.2 – 2.9)	0.216
PON1 concentration; mg/L	94.9 (33.7 – 223.2)	130.7 (41.9 – 405.5)	110.5 (40.0 – 258.9)	197.0 (160.1 – 340.1)	0.068
Paraoxonase sp. ac. [†] ; KU/g	2.31 (0.72 – 10.56)	1.23 (0.54 – 5.66)	1.63 (0.57 – 3.76)	0.63 (0.37 – 0.85)	0.024
TBBLase sp. ac. [†] ; U/g	31.0 (9.3 – 171.7)	21.0 (1.0 – 79.0)	28.0 (8.0 – 75.0)	6.0 (6.0 – 18.0)	0.028
MCP-1; ng/L	192.5 (120.0 – 396.4)	206.1 (146.6 – 490.4)	223.7 (124.1 – 479.0)	323.6 (201.1 – 331.7)	0.058
CRP; mg/L	12.42 (0.90 – 213.26)	59.76 (7.94 – 204.20)	62.53 (16.16 – 148.64)	183.28 (26.71 – 329.45)	0.001
Procalcitonin; µg/L	0.27 (0.14 – 1.08)	0.42 (<0.10 – 0.76)	0.29 (<0.10 – 1.88)	0.29 (0.28 – 0.30)	0.947

* Differences are assessed by the Kruskal-Wallis test. [†] sp. ac.: Specific activity calculated as the enzyme activity ÷ corresponding PON1 concentration

The identified microorganisms in the catheters were the following:

CRI = 1:

- Six catheters with *Staphylococcus epidermidis*
- One catheter with *Staphylococcus epidermidis* and *Corynebacterium*.
- One catheter with *Pseudomonas aeruginosa*
- One catheter with *Klebsiella pneumoniae*
- One catheter with methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA)
- One catheter with *Candida parapsilosis*

CRI = 2:

Defined by clinical criteria. No cultures performed.

CRI = 3:

- One catheter with *Enterococcus* and *Staphylococcus epidermidis*
- One catheter with MRSA
- One catheter with *Candida albicans*

Table S3. Genotype frequencies of the *PON1*₁₉₂ and *PON1*₅₅ gene polymorphisms in the control group and in patients with an indwelling central venous catheter

Polymorphism	Isoform	Control group n = 399	Patients n = 102	P*
PON1 ₁₉₂ , n (%)	QQ	199 (49.9)	52 (51.0)	0.902
	QR	165 (41.4)	40 (39.2)	
	RR	35 (8.7)	10 (9.8)	
PON1 ₅₅ , n (%)	LL	188 (47.1)	47 (46.1)	0.964
	LM	139 (34.8)	37 (36.3)	
	MM	72 (18.1)	18 (17.6)	

*Differences assessed with the χ^2 test

